

Eine rasterelektronenmikroskopische und mikrobiologische Studie zum Vorkommen von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen im kariösen Dentin von Kindern mit frühkindlicher Karies

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae dentariae
(Dr. med. dent.)

vorgelegt dem
Rat der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von
Karin Senf
geboren am 10.06.1981 in Eisenach

Jena 2010

Gutachter

1. _____

2. _____

3. _____

Tag der öffentlichen Verteidigung: _____

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

	Seite
1	Zusammenfassung 1
2	Zur Ätiologie und Nomenklatur der frühkindlichen Karies 2
3	Zielstellung 16
4	Material und Methoden 17
4.1	Patientengut 17
4.2	Klinisch-experimentelles Vorgehen 18
4.2.1	Untersuchungsgut 18
4.2.2	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen 19
4.2.3	Mikrobiologische Untersuchungen 20
4.2.3.1	Bakterienstämme und Hefen 21
4.2.3.1.1	Zur Identifizierung der Streptokokken 22
4.2.3.1.2	Zur Identifizierung der Laktobazillen 24
4.2.3.1.3	Zur Identifizierung der Hefen 25
4.3	Biostatistische Auswertung 27
5	Ergebnisse 28
5.1	Mikrobiologische und rasterelektronenmikroskopische Ergebnisse zum Vorkommen von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen im kariösen Dentin von Kindern mit frühkindlicher Karies 28
5.2	Rasterelektronenmikroskopische Ergebnisse zum Vorkommen von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen im kariösen Dentin von Kindern mit frühkindlicher Karies 33
6	Diskussion 38
7	Schlussfolgerung 54
8	Literaturverzeichnis 55
9	Anhang 71
	Danksagung 72
	Ehrenwörtliche Erklärung 73
	Lebenslauf 74

Abkürzungsverzeichnis

CFU	Colony Forming Unit (koloniebildende Einheit)
DGZMK	Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
dmfs	Zahnflächenbezogener Milchzahnkariesindex, Anzahl der behandlungsbedürftigen (decayed), aus Kariesgründen extrahierten (missed), gefüllten (filled) Milchzahnflächen (surfaces)
dmft	Zahnbezogener Milchzahnkariesindex, Anzahl der behandlungsbedürftigen (decayed), aus Kariesgründen extrahierten (missed), gefüllten (filled) Milchzähne (teeth)
dt	Anzahl der behandlungsbedürftigen (decayed) Milchzähne (teeth)
DMF(T)	Zahnbezogener Kariesindex, Anzahl der behandlungsbedürftigen (decayed), aus Kariesgründen extrahierten (missed), gefüllten (filled) bleibenden Zähne (teeth)
ECC	Early Childhood Caries, Frühkindliche Karies
EPS	Extrazelluläre Polysaccharide
et	Anzahl der zu extrahierenden (to be extracted) Milchzähne (teeth)
ft	Anzahl der gefüllten (filled) Milchzähne (teeth)
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IPS	Intrazelluläre Polysaccharide
MDS	Medizinischer Dienst der Spitzenverbände der Krankenkassen e.V.
mt	Anzahl der fehlenden (missed) Milchzähne (teeth)
NIDCR	National Institute of Dental and Craniofacial Research
NP	Narkosepatient
ppm	parts per million
REM	Rasterelektronenmikroskop
sECC	Schwere (severe) Form der Frühkindlichen Karies (Early Childhood Caries)
WHO	World Health Organization

1 Zusammenfassung

Die frühkindliche Karies stellt in der zahnärztlichen Praxis eine besondere Herausforderung dar. Die dem Zahnarzt vorgestellten kleinen Patienten haben häufig starke Gebisszerstörungen und sind gewöhnlich aus Angst nicht kooperativ. Bei schwerem kariösen Befall der Milchzähne bleibt oft nur die Möglichkeit der Sanierung unter Intubationsnarkose.

Ziel der vorliegenden Studie war die rasterelektronenmikroskopische Darstellung der massiv mit Mikroorganismen besiedelten kariösen Läsionen der extrahierten Zähne von Kindern mit frühkindlicher Karies und der kulturelle Nachweis der Keime. Dabei stand die Häufigkeit des Vorkommens von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen im Vordergrund.

11 Kinder mit frühkindlicher Karies zwischen zwei und fünf Jahren, die ambulant und unter Intubationsnarkose behandelt wurden, konnten in die Studie einbezogen werden. Insgesamt wurden 41 stark zerstörte Milchzähne extrahiert; 33 dieser Zähne wurden nachfolgend rasterelektronenmikroskopisch bei mindestens drei unterschiedlichen Vergrößerungsstufen – zwischen 100- und 10.000-fach – betrachtet. Von fünf der 33 Zähne wurde zusätzlich kariöses Dentin mikrobiologisch aufgearbeitet, um durch positive Kulturnachweise von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen die rasterelektronenmikroskopischen Befunde zu sichern.

Am häufigsten mussten die oberen mittleren Milchschnidezähne (n=13), gefolgt von den oberen seitlichen Milchschnidezähnen (n=9), extrahiert werden. Weniger häufig waren die oberen (n=5) und unteren Milchmolaren (n=14) betroffen. Die unteren Milchschnidezähne und Eckzähne des Ober- und Unterkiefers der Kinder konnten in jedem Fall erhalten werden.

Rasterelektronenmikroskopisch waren die kariösen Milchzähne massiv mikrobiell besiedelt. Mutans-Streptokokken und Laktobazillen waren in nahezu jeder Kavität zu finden (94 % und 97 %). Hefen kamen dabei in 48,5 % der Fälle vor. Dabei konnten Hefen nur im kariösen Dentin der Zähne im Oberkiefer nachgewiesen werden. Unsanierte Zähne stellen ein allgemeines Gesundheitsrisiko dar, das insbesondere für kleine Kinder, deren Immunsystem noch nicht vollständig gereift ist, von Bedeutung ist. Aus diesen Gründen ist es unverzichtbar, kariöse Milchzähne zu sanieren, um die Mundgesundheit wiederherzustellen und die allgemeine Gesundheit des Kindes zu gewährleisten.

2 Zur Ätiologie und Nomenklatur der frühkindlichen Karies

Ein wichtiger Pfeiler für eine ungestörte, unbeschwerte und gesunde Entwicklung des Kindes ist neben der allgemeinen Gesundheit auch die Mundgesundheit.

Im Kindesalter stellt die Karies heute immer noch die häufigste Erkrankung der Mundhöhle dar (Twetman et al. 2000), wobei sich die frühkindliche Karies als schwerste Form der Milchzahnkaries manifestiert.

Die WHO (World Health Organization) definiert den Begriff der Gesundheit als einen „...Zustand vollkommenen körperlichen, geistigen und sozialen Wohlbefindens, und nicht die bloße Abwesenheit von Krankheit oder Gebrechen“ (WHO vom 22. Juli 1946). In Bezug auf die frühkindliche Karies verdeutlicht diese Definition sehr gut die Wichtigkeit eines gesunden Kauorgans. Ästhetische Aspekte sowie funktionelle Gesichtspunkte haben einen hohen Stellenwert. Neben sichtbaren Defekten können auch Sprachfehler, Schluckbeschwerden und Kauprobleme die Folge dieser schweren chronischen Erkrankung sein. Somit spielt neben der rein körperlichen auch die psychische Komponente für das Wohlbefinden des Kindes eine bedeutende Rolle. Aus diesen Gründen ist es eine wichtige Aufgabe, die Mundgesundheit beim Kind zu erhalten oder wieder herzustellen.

Zur Nomenklatur und Definition der frühkindlichen Karies: Abraham Jacobi, ein amerikanischer Kinderarzt, war 1862 der Erste, der das Bild der Karies im frühen Kindesalter beschrieb. 70 Jahre später griff Beltrami die Problematik wieder auf und sprach von „Les dents noires des tout-petits“ (Beltrami 1932). Um die frühkindliche Karies zu beschreiben, wurden in den letzten Jahrzehnten viele verschiedene Begriffe geprägt (Ismail und Sohn 1999). In der englischsprachigen Literatur verwendete Fass (1962) den Begriff „nursing bottle mouth“, um das Krankheitsbild zu beschreiben. Weitere Autoren prägten später Begriffe wie „nursing caries“, „nursing bottle caries“, „nursing bottle syndrome“, „rampant caries“ und „baby bottle tooth decay“ (Marchant et al. 2001, Alaluusua et al. 1996, Eronat und Eden 1992, Broderick et al. 1989, Derkson und Ponti 1982). In der deutschsprachigen Literatur finden sich Begriffe wie „Zuckertee-Karies“, „Nuckelflaschenkaries (NFK)“ und „Babyflaschenkaries“ (Wetzel 1982).

All diese Begriffe beziehen sich fast ausschließlich auf die Flaschenernährung bzw. die Stillgewohnheiten der Kleinkinder. Sie sollten die Risikofaktoren der frühkindlichen Karies auch dem Laien leicht verständlich machen, führten allerdings zu der Annahme,

dass die Verwendung der Babyflasche die alleinige Ursache der frühkindlichen Karies ist (Horowitz 1998). 1994 prägten die „Centers of Disease Control and Prevention“ den Begriff „Early Childhood Caries“ (ECC), der die multifaktorielle Erkrankung besser reflektieren und ihr eine breitere Bedeutung zugestehen sollte (Kaste und Gift 1995). Im Rahmen eines Workshops, unterstützt vom „National Institute of Dental and Craniofacial Research (NIDCR)“, wurden 1999 Empfehlungen zur Einteilung der frühkindlichen Karies in zwei Kategorien (Tab. 1) gegeben.

Tabelle 1: Durch das National Institute of Dental and Craniofacial Research vorgeschlagene Definitionen der frühkindlichen Karies (Early Childhood Caries, ECC) und ihrer schweren Form (severe Early Childhood Caries, sECC) (modifiziert nach Drury et al. 1999)

Alter (Monate)	ECC	sECC
< 12	1 oder mehr dmf-Flächen	1 oder mehr dmf Glattflächen
12 – 23	1 oder mehr dmf-Flächen	1 oder mehr dmf Glattflächen
24 – 35	1 oder mehr dmf-Flächen	1 oder mehr dmf Glattflächen
36 – 47	1 oder mehr dmf-Flächen	1 oder mehr kavitierte, gefüllte oder extrahierte (durch Karies) Glattflächen der oberen Schneidezähne ODER dmfs ≥ 4
48 – 59	1 oder mehr dmf-Flächen	1 oder mehr kavitierte, gefüllte oder extrahierte (durch Karies) Glattflächen der oberen Schneidezähne ODER dmfs ≥ 5
60 – 71	1 oder mehr dmf-Flächen	1 oder mehr kavitierte, gefüllte oder extrahierte (durch Karies) Glattflächen der oberen Schneidezähne ODER dmfs ≥ 6

So ist ECC definiert als das Vorhandensein von einer oder mehrerer zerstörter (nicht-kavierter oder kavierter Läsionen), infolge von Karies verlorener oder gefüllter Zahnflächen jedes Milchzahnes eines Kindes unter sechs Jahren.

Die schwere Form der ECC (severe ECC, sECC) ist eine atypische, progressive und akute, sich schnell verbreitende Form der frühkindlichen Karies. Sie wird separat für jede Altersgruppe beschrieben:

Bei Kindern, die jünger als drei Jahre alt sind, wird jegliches Auftreten von Glattflächenläsion als Diagnose für das Vorliegen einer schweren ECC betrachtet. Dabei wird die sECC für Kinder zwischen drei und sechs Jahren mit einer oder mehreren Läsion der oberen Schneidezähne oder einem dmfs-Wert von 4,5 und sechs Flächen für die jeweils Drei-, Vier- und Fünfjährigen beschrieben (Drury et al. 1999). Die frühe Kindheit wurde als die Zeit von der Geburt bis zum Alter von 71 Monaten definiert (Drury et al. 1999) (Tab. 1).

Eine weitere heute gebräuchliche Einteilung der frühkindlichen Karies wurde von Wyne (1999) eingeführt. Hier werden drei Typen unterschieden. Typ I (milde oder moderate Form) liegt vor, wenn isolierte kariöse Läsionen an Milchmolaren und/oder Milchsneidezähnen vorhanden sind. Diese Form betrifft vor allem Kinder zwischen zwei bis fünf Jahren. Vom Typ II (moderate bis schwere Form) wird gesprochen, wenn labiopalatinale Flächen der oberen Milchsneidezähne mit oder ohne Beteiligung von Milchmolaren betroffen sind. Hierbei werden Zähne bereits kurz nach der Eruption kariös. Untere Milchsneidezähne sind noch unbeteiligt. Der Typ II kann schnell in Typ III übergehen. Bei der schweren Form (Typ III) sind dann fast alle Milzhähne von der kariösen Zerstörung betroffen; die schwere Form liegt meist im Alter von drei bis fünf Jahren vor (Wyne 1999). Splieth et al. (2009) hingegen zählten nur Typ II und Typ III zum Formenkreis der frühkindlichen Karies. Typ I stellt demgegenüber das Auftreten „normaler“ Karies im Kindesalter dar, bei der hauptsächlich die Molarenfissuren betroffen sind.

Zum Ursachengefüge der frühkindlichen Karies: Die frühkindliche Karies ist eine schwere Form der Milchzahnkaries bei Säuglingen und Kleinkindern (Horowitz 1998) und hat gleich der Karies in der bleibenden Dentition eine infektiöse Komponente (Caufield et al. 2005, Wan et al. 2003).

Die Entstehung resultiert aus einer Interaktion verschiedener ätiologischer Faktoren, die gleichzeitig vorhanden sein müssen, um die Erkrankung auszulösen und voranzutreiben (Vadiakas 2007, Navia 1994) (Abb. 1).

Kariogene Mikroorganismen, fermentierbare Kohlenhydrate, anfällige Zähne (Wirt) und Zeit sind die wesentlichen Faktoren, die für die Ätiopathogenese der Karies

verantwortlich sind (Harris et al. 2004, Douglass et al. 2001, Seow 1998, Ripa 1988). Heute wird die frühkindliche Karies als ein Public Health Problem mit biologischen, sozialen und verhaltensbedingten Determinanten angesehen (Splieth 2009, Pine et al. 2004a,b, Adair et al. 2004, Berkowitz 2003, Twetman et al. 2000). Slavkin (1999) vertrat dabei die Meinung, dass ebenfalls genetische Komponenten bei der Kariesentstehung eine Rolle spielen.

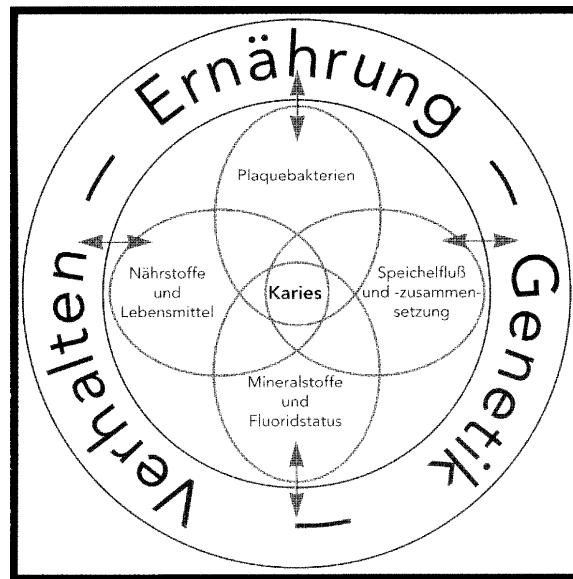


Abbildung 1: Ursachengefüge der Karies (nach Navia 1994)

Die frühkindliche Karies hat gewöhnlich eine besonders aggressive Ausprägung. Die mikrobielle Besiedlung der kindlichen Mundhöhle, die Unreife des Abwehrsystems, die niedrige Säureresistenz der durchgebrochenen Zahnoberflächen und eine extrem häufige Zuckerzufuhr – insbesondere aus der Babyflasche – beschleunigen die Kariesentwicklung und führen zu schneller Progression bei jungen Kindern (Vadiakas 2007, Seow 1998). Das Kariesmuster bei Kindern wird von der Eruptionsfolge der Zähne beeinflusst. Die Eruptionsfolge steht in Zusammenhang mit dem Alter, das somit auch zeitlich das erste Karieserlebnis bestimmt (Douglass et al. 2001).

Typisch für die schwere Form der frühkindlichen Karies ist, dass Zahnflächen betroffen sind, die normalerweise einem geringeren Kariesrisiko unterliegen (Harris et al. 2004, Milnes 1996, Wyne 1996). Beim Trinken aus der Babyflasche umspülen die kariogenen Getränke die oberen Schneidezähne; die Zähne im Unterkiefer sind durch die Zunge und durch die puffernde Funktion des Speichels aus den sublingualen und

submandibulären Speicheldrüsen geschützt (Kneist und Borutta 2005, Milnes 1996, Eronat und Eden 1992, Ripa 1988). Die oberen Milchschnidezähne sind durch ihren frühen Durchbruch gewöhnlich als erste Zähne betroffen (Milnes 1996, Ripa 1988). Durch die langsame Zuckerclearance an den Labialflächen wird dort die Säureproduktion der Mikroorganismen und damit auch die Kariesentstehung vorangetrieben (Hanaki et al. 1993). Milcheckzähne und zweite Milchmolaren werden meist verschont oder nur wenig zerstört (Milnes 1996, Ripa 1988).

Der für einen Säureangriff empfindlichste Bereich des Milchzahnes ist die Neonatallinie, die eine mikroskopisch sichtbare Struktur darstellt. Sie befindet sich im Schmelz und Dentin aller Milchzähne und ersten unteren bleibenden Molaren. Der inhomogene und hypomineralisierte Schmelz ist die Demarkationslinie zwischen prä- und postnatal gebildetem Schmelz. Die Neonatallinie ist durch ihre Struktur besonders empfindlich für den Säureangriff kariogener Mikroorganismen und kann somit als Initiationsort der frühkindlichen Karies begriffen werden (Kühnisch et al. 2003).

Erste klinische Anzeichen der frühkindlichen Karies gehen mit der Ausbildung einer weißlich-opak erscheinenden, der Neonatallinie folgenden, Schmelzdemineralisation am gingivalen Drittel der Zahnkrone der oberen Schneidezähne einher (Kneist und Borutta 2005, Milnes 1996). Bei zu häufiger Aufnahme zuckerhaltiger Getränke und ausbleibender Remineralisation kommt es rasch zur Ausbildung von Kavitäten (Kneist und Borutta 2005, Milnes 1996) bis hin zur vollständigen Zerstörung der Zahnkrone (Milnes 1996, Wetzel 1982). Meist sind zuerst bukkale und palatinale Flächen der oberen mittleren Schneidezähne betroffen, später sind mesiale und distale Kavitäten am stärksten ausgeprägt. Analog verhält es sich beim lateralen Schneidezahn, wobei die distale Fläche am wenigsten betroffen ist (Douglass et al. 2001).

Ohne Behandlung kann die Zahnpulpa, durch die totale kariöse Destruktion bis auf das Gingivaniveau, avital werden und in der Folge eine Parodontitis periapicalis chronica entstehen (Milnes 1996, Wetzel et al. 1993, Wetzel 1982). Dies kann Hypoplasien der Zahnhartewebe des bleibenden Zahnes mit Defektbildungen zur Folge haben. Die fehlgebildeten Zähne werden als Turner-Zähne bezeichnet. Betroffen sind am häufigsten die Prämolaren, seltener die bleibenden Schneidezähne (Koch und Gängler 2005).

Douglass et al. (2001) registrierte Karies an den oberen Schneidezähnen bei 10 bis 12 Monate alten Kindern und Fissurenkaries der Molaren bereits im Alter von

13 bis 15 Monaten. Nach Wetzel (1982) betrifft die Zerstörung der Frontzähne in der Regel alle Flächen des Zahnes, während kariöse Läsionen im Molarenbereich meistens auf die okklusalen Flächen beschränkt bleiben (Tab. 2).

Tabelle 2: Befallsmuster der Zähne bei frühkindlicher Karies (modifiziert nach Kneist und Borutta 2005)

Zahngruppe	Zahnfläche
Mittlere Schneidezähne im Oberkiefer	Faziale, orale, mesiale und distale
Seitliche Schneidezähne im Oberkiefer	Faziale, linguale, mesiale und distale
Erste Molare im Ober- und Unterkiefer	Okklusale
Eckzähne im Ober- und Unterkiefer	Faziale, linguale, mesiale und distale
Zweite Molare im Ober- und Unterkiefer	Okklusale
Schneidezähne im Unterkiefer	Faziale, orale, mesiale und distale

Außerdem existiert eine positive Korrelation zwischen Karies der Oberkieferfront und dem Karieserlebnis proximaler Zähne (O’Sullivan und Tinanoff 1993b). O’Sullivan und Tinanoff (1993a) fanden bei 86,8% untersuchter Kinder mit Grübchen- und Fissurenkaries der Milchmolaren auch eine kariöse Zerstörung an den Oberkieferfrontzähnen. Jedoch entwickelten mehr als 91% der Kinder, deren obere Milchfrontzähne kariesfrei waren, auch keine Karies an proximalen Zähnen.

Demzufolge haben Kinder mit kariösen oberen Schneidezähnen ein hohes Risiko, dass entsprechend der Eruptionsfolge auch andere Milchzähne befallen werden, wenn zusätzlich schlechte Ernährungsgewohnheiten und Mutans-Streptokokken vorhanden sind (O’Sullivan und Tinanoff 1993b, Wetzel 1988). Werden schädigende Einflüsse frühzeitig beseitigt und eine Milchzahnsanierung vorgenommen, kann das Fortschreiten der Karies auf Milcheckzähne und Milchmolaren verhindert werden (Borutta und Kneist 2007).

Zur Bedeutung der Mutans-Streptokokken für die Kariesentstehung: Eine Grundvoraussetzung für die Kariesentstehung ist das Vorhandensein von Plaque. Mit Etablierung der oralen Mikrobiologie in der Zahnheilkunde und wachsenden Erkenntnissen über die Plaque bzw. den Biofilm wurden zunächst die spezifische und nicht-spezifische Plaquehypothese zur Erklärung der Kariesauslösung und –progression

diskutiert. Heute ist es die ökologische bzw. erweiterte ökologische Plaquehypothese, die den kariösen Prozess erklärt (Marsh 2006, Marsh und Martin 2003, Marsh 1994, Loesche 1986, Loesche 1976).

Die spezifische Plaquehypothese besagte, dass nur wenige Mikroorganismen – insbesondere Mutans-Streptokokken – aktiv an der Kariesauslösung beteiligt sind (Loesche 1976). Dem gegenüber stand bei der nicht-spezifischen Plaquehypothese für die Kariesauslösung nicht das Vorhandensein spezifischer Keime im Vordergrund. Es wurde vielmehr die Gesamtaktivität der den Zahn kolonisierenden Mikroorganismen für die Kariespathogenese verantwortlich gemacht (Marchant et al. 2001, Marsh 1994). Die ökologische bzw. erweiterte Plaquehypothese hingegen beschreibt als Ursache der Kariesauslösung die Verschiebung des mikrobiellen Gleichgewichtes in der Plaque zugunsten azidurischer und azidogener Keime im Ergebnis veränderter Umweltfaktoren, beispielsweise ein erhöhtes Zuckerangebot, eine verringerte Speichelfließrate und ein geschwächtes Immunsystem (Marsh 2006, Marsh 2003).

Mutans-Streptokokken, insbesondere die humanpathogenen Arten *Streptococcus sobrinus* und *Streptococcus mutans*, werden heute unumstritten als bedeutsame Keime für die Kariesentstehung und -progression betrachtet (Loesche 1986). In der Vergangenheit wurde *S. mutans* durch sein häufigeres Vorkommen im Vergleich zu *S. sobrinus* als der virulentere Keim (de Carvalho et al. 2006) angesehen. Inzwischen wird aber darauf aufmerksam gemacht, dass *S. sobrinus* ein höheres virulentes Potenzial haben dürfte (de Soet et al. 1990, 1992). Hirose et al. (1993), Kneist et al. (2004b) und Rupf et al. (2006) konnten einen höheren Karieszuwachs und mehr kariös betroffene Zähne bzw. Zahnflächen bei Kindern auf das Vorkommen von *S. sobrinus* zurückführen.

Mutans-Streptokokken besitzen eine Reihe virulenter Eigenschaften, die die Kariogenität der Plaque bestimmen (Seow 1998). Sie produzieren große Mengen an Milchsäure, die als stärkste organische Säure in der Lage ist, eine Demineralisation des Zahnhartgewebes hervorzurufen (Marsh 2006, Kneist und Borutta 2005, Loesche 1986). Mutans-Streptokokken sind zudem extrem azidurisch, womit eine Kolonisation und Persistenz unter einem sehr niedrigem pH-Wert ermöglicht wird (Bergholz 2002, Bowen 1998). Sie produzieren wasserunlösliche Glukane aus Saccharose (extrazelluläre Polysaccharide, EPS), die eine feste Adhäsion an der Zahnoberfläche und eine interzelluläre Aggregation ermöglichen und dadurch die Dicke der Plaque erhöhen

(Mattos-Graner et al. 2000, Hamada und Slade 1980, Freedman et al. 1978); gebildete Säuren können nicht mehr neutralisiert werden. Saccharose kann aber dennoch durch die Plaque diffundieren und dort wiederum als Substrat zur Säurebildung dienen (Freedman et al. 1978). *S. mutans*, aber nicht *S. sobrinus*, kann weiterhin intrazelluläre Polysaccharide (IPS) synthetisieren, die dem Bakterium dazu dienen auch in Phasen mit geringem exogenem Substratangebot Säuren zu bilden (Spatafora et al. 1995). Mutans-Streptokokken sind weiterhin zur Bildung von Dextranase befähigt, wodurch sie andere dextranproduzierende Bakterien wie *S. mitis* und *S. sanguinis* in der Plaque unterdrücken können (Schachtele et al. 1975). Den gleichen Effekt können sie durch ihre Bakteriozinogenität gegenüber *S. oralis*, *S. sanguinis* und *S. mitis* in der Plaque erreichen und ihr eigenes Vorkommen begünstigen (Scharff 2004, Kneist et al. 2000). *Zur Transmission der Mutans-Streptokokken:* Die frühe Kolonisation der Mundhöhle mit *S. mutans* ist der Hauptrisikofaktor für die frühkindliche Karies und ein zukünftiges Karieserlebnis (Berkowitz 2003). Je früher die Kolonisation der kindlichen Mundhöhle mit Mutans-Streptokokken erfolgt, desto höher ist das Kariesrisiko (Köhler et al. 1988). Mutans-Streptokokken werden in der frühen Kindheit nach dem Zahndurchbruch meist von der Mutter via vertikaler (Kneist et al. 2004a, Merte 2002) oder seltener von anderen Personen via horizontaler Transmission auf das Kind übertragen (Mattos-Graner et al. 2001).

Es konnte gezeigt werden, dass sowohl phänotypische (Kneist et al. 2004a, Masuda et al. 1985) als auch genotypische (Li und Caufield 1995) Charakteristika der Mutans-Streptokokken von Mutter und Kind übereinstimmten. Li und Caufield (1995) untersuchten vergleichend die mütterliche und kindliche Mundflora und konnten untermauern, dass die Genotypen von Mutter und Kind in 71% der Fälle identisch waren. Mattos-Graner et al. (2001) hingegen isolierten dieselben Genotypen von *S. mutans* bei Kindern aus Kindergärten und unterstrichen damit die Möglichkeit einer horizontalen Transmission. Am häufigsten geschieht die Übertragung durch den Speichel (Kneist und Borutta 2005, Gripp und Schlagenhauf 2002, Caufield et al. 1993). Dabei ist eine wiederholte Exposition des fremden Speichels mit der kindlichen Mundhöhle von Bedeutung (Wan et al. 2003, Wan et al. 2001).

Mütterliche Faktoren, die ein Risiko für die Übertragung von Mutans-Streptokokken auf ihr Kind darstellen, sind erhöhte Keimzahlen im Speichel bzw. in der Plaque der Mütter $> 10^5$ CFU/ml (Colony Forming Units pro Milliliter), Plaque die mehr als 50% der

Zähne bedeckt, Zahnfleischtaschen, schlechte mütterliche Oralhygiene und nachteilige Ernährungsgewohnheiten der Mutter (Wan et al. 2003, Wan et al. 2001). Kindliche Faktoren, die die initiale Kolonisation der Mundhöhle mit Mutans-Streptokokken erleichtern, sind eine reiche Kost an fermentierbaren Kohlenhydraten, eine schlechte Mundhygiene und die Aufnahme kariogener Getränke – insbesondere mit der Babyflasche – während der Nacht (Wan et al. 2003, van Houte et al. 1982).

Der Zeitpunkt, zu dem Mutans-Streptokokken erworben werden, scheint ebenfalls von Bedeutung zu sein. Kinder entwickeln mit einer höheren Wahrscheinlichkeit eine frühkindliche Karies, wenn ihre Mundhöhle in frühen Lebensmonaten bzw. -jahren mit Mutans-Streptokokken kolonisiert wird (Kneist und Borutta 2005, Harris et al. 2004, Berkowitz et al. 2003, Grindefford et al. 1993). Viele Studien berichten über die erste Kolonisation der Mundhöhle mit *S. mutans* im ersten Lebensjahr (Karn et al. 1998, Mohan et al. 1998). Dieser Zeitraum stimmt mit der Eruption der ersten Milchzähne überein (Karn et al. 1998, Caufield et al. 1993). Caufield et al. (1993) gingen von einem sogenannten „window of infectivity“ aus, das einen Zeitraum vom 19. bis zum 31. Lebensmonat beschreibt, in dem Kinder mit *S. mutans* infiziert werden. Nach Ergebnissen von Caufield et al. (1993) waren 25% untersuchter 19 Monate alter und 75% 31 Monate alter Kinder mit *S. mutans* infiziert.

Es konnte jedoch gezeigt werden, dass eine Übertragung von Mutans-Streptokokken auch schon viel früher stattfinden kann (Mohan et al. 1998). Wan et al. (2001) konnten *S. mutans* sogar bei Kindern, die jünger als 3 Monate waren, nachweisen. Da Mutans-Streptokokken nur eine geringe Fähigkeit zur Adhäsion an die Schleimhaut besitzen, dürften sie bei zahnlosen Kindern nicht oder nur in geringerer Konzentration transient gefunden werden (Caufield et al. 1993).

Die Periode zwischen dem dritten und sechsten Lebensjahr – zwischen dem Durchbruch des letzten Milchmolaren und ersten bleibenden Zahnes – scheint ein Zeitraum zu sein, in dem das Kind weniger gefährdet ist, Mutans-Streptokokken zu erwerben (Caufield et al. 1993). Dennoch konnte Ruopp (2005) belegen, dass eine Übertragung der Mutans-Streptokokken sowohl in der Milchgebiss- als auch Wechselgebissphase stattfinden kann. Dasanayake et al. (1995) konnten auch eine positive Korrelation zwischen der Mutans-Streptokokken-Keimzahl und der Summe der Zahnoberflächen nachweisen, die nachfolgend untermauert wurde. So ergab sich entsprechend des Alters von Kindern eine Erhöhung der Mutans-Streptokokkenzahl mit jedem eruptierenden

Zahn (Kneist et al. 2006, Wan et al. 2003, Borutta et al. 2002, Mohan et al. 1998, Fujiwara et al. 1991).

Zur Bedeutung der Laktobazillen und Hefen für die frühkindliche Karies: Neben den Mutans-Streptokokken sind auch Laktobazillen und Hefen in die Ätiologie der frühkindlichen Karies involviert. Laktobazillen sind Schleimhautparasiten. Sie können nicht an der Zahnglattfläche haften. In Untersuchungen mit gnotobiotischen Ratten konnte Michalek et al. (1981) zeigen, dass Laktobazillen hauptsächlich die weiche Schleimhaut der Zunge besiedeln. Michalek et al. (1981) gelang es aber auch, durch Infektion der Tiere mit Laktobazillen Fissurenkaries auszulösen; nach Infektion der Tiere mit Mutans-Streptokokken war der Fissurenkariesbefall der Tiere aber weitaus höher. Diese klassischen Versuche lieferten wissenschaftlich den Beweis dafür, dass Laktobazillen bei Nährstoffzufuhr auch in Fissuren und Kavitäten überleben können und durch ihre Milchsäureproduktion zur Kariesauslösung in Fissuren durchaus beitragen. Dabei sind Laktobazillen stärker azidurisch als Mutans-Streptokokken (Baake 2003, Bergholz 2002).

Neben Mutans-Streptokokken und Laktobazillen wird heute auch Hefen – insbesondere *C. albicans* – Bedeutung in der Ätiopathogenese der Karies bzw. frühkindlichen Karies beigemessen und ebenso in der Ätiopathogenese der Karies bei jungen Erwachsenen (de Carvalho et al. 2006, Schulz-Weidner et al. 2005, Beighton et al. 2004, Marchant et al. 2001, Moalic et al. 2001, Ollila et al. 1997, Wetzell et al. 1985). Gleich Laktobazillen tragen sie durch ihre Säureproduktion zum Fortschreiten des kariösen Prozesses bei (Klinke et al. 2009). Bei Kindern mit frühkindlicher Karies sind sie darüber hinaus ein besonderes Gesundheitsrisiko für die kleinen Patienten, deren Immunsystem noch nicht gereift ist (Wetzell et al. 1993, Wetzell et al. 1991).

Zur Bedeutung des Ernährungsverhaltens von Kindern mit frühkindlicher Karies: Das Ernährungsverhalten spielt in der Ätiologie der frühkindlichen Karies eine sehr bedeutende Rolle. Zuckerhaltige Nahrungsmittel und andere fermentierbare Kohlenhydrate (z.B. Mehl) dienen als Substrate für die oralpathogenen Keime. Saccharose, Glukose und Fruktose sind die wichtigsten Zucker. Saccharose stellt dabei den am stärksten kariogenen Zucker dar, der bei Metabolisierung durch Bakterien zu Glukanen und Matrix umgebaut werden kann (Tinanoff und Palmer 2000). Nicht die aufgenommene Zuckermenge, sondern die Häufigkeit der Aufnahme und eine lange Periode, mit der der Zucker im Mund verbleibt, sind dabei entscheidend (Tinanoff und

Palmer 2000). Dieser Zusammenhang konnte bereits 1954 in der Vipeholmstudie erhellt werden (Gustafsson et al. 1954).

Vor allen Dingen der nächtliche Konsum zuckerhaltiger Getränke – insbesondere aus der Babyflasche – und die häufige Aufnahme kariogener Zwischenmahlzeiten begünstigt die Entstehung der frühkindlichen Karies (Kneist und Borutta 2005). Das Trinken zuckerhaltiger Getränke aus der Babyflasche (gesüßte Tees, Fruchtsäfte, gesüßte Milch oder Baby-Instant-Tees) führt bei häufigem Konsum schon im Kleinkindalter zur völligen Zerstörung der oberen Schneidezähne und später auch zur kariösen Erkrankung der übrigen Milchzähne (Wetzel 1982).

Beim Trinken aus der Saugerflasche wird durch die langsame Zufuhr die Expositionszeit der Trinkflüssigkeit auf den Zahnschmelz und zugleich die Verfügbarkeit der fermentierbaren Kohlenhydrate für die kariogenen Mikroorganismen erhöht (Wetzel 1982). Dies ist besonders während des Schlafes gefährlich, da nachts die Speichelflussrate und die orale Clearance verringert sind (Berkowitz 2003). Shantinath et al. (1996) zeigten, dass auch Schlafschwierigkeiten des Kindes mit einer gehäuften nächtlichen Flaschengabe und somit häufiger mit frühkindlicher Karies assoziiert sind.

Zudem ist der Zeitpunkt der Flaschenentwöhnung eng mit dem Auftreten von frühkindlicher Karies verbunden. Dabei erkrankten Kinder, die erst nach dem 14. Lebensmonat auf das Trinken aus der Tasse umgestellt werden, eher als Kinder, die früher ihre zahnschädigenden Trinkgewohnheiten ändern (Febres et al. 1997). Auch wenn der Gebrauch einer Babyflasche (besonders nachts) ätiologisch bei der frühkindlichen Karies meistens eine zentrale Rolle spielt, ist der nächtliche Flaschengebrauch ebenso bei kariesfreien Kindern häufig (Vadiakas 2007); in diesen Fällen ist davon auszugehen, dass hier der Flascheninhalt nicht kariogen war.

Douglass et al. (2001) fanden, dass die Kariesentwicklung nach dem Absetzen der Babyflasche weiter gehen kann und folgerten daraus, dass andere ätiologische Risikofaktoren während und nach der Periode des Flaschengebrauchs gegenwärtig sein müssen, um Karies bei kleinen Kindern hervorzurufen.

Neben der Entstehung von Karies im Milchgebiss kann ein unsachgemäßer und zu langer Gebrauch der Babyflasche darüber hinaus zu Fehlstellungen des stomatognathen Systems führen (Robke 2007). Günay et al. (2007) wiesen außerdem darauf hin, dass die Saugerflaschen- und Stillphase bis zum neunten Monat beendet sein sollte, um eine psychische „Flaschenabhängigkeit“ zu vermeiden.

Zur Bedeutung des Stillens für die Entstehung der frühkindlichen Karies: Das Auftreten frühkindlicher Karies wurde auch im Bezug auf das mütterliche Stillen in zahlreichen Studien kontrovers diskutiert (van Palenstein Heldermaun et al. 2006, Dye et al. 2004, Milnes 1996, Hallonsten et al. 1995, Wendt und Birkhed 1995). Zu langes (> 12 Monate) sowie zu kurzes (< 2 Monate) Stillen erhöht das Risiko an Karies zu erkranken (Wendt und Birkhed 1995).

Insbesondere in Entwicklungsländern stellt das Stillen die Haupternährungsquelle für Säuglinge bzw. Kleinkinder dar (Oliveira et al. 2006). Vor allen Dingen scheint das in den weniger industrialisierten Ländern häufig praktizierte Stillen während der Nacht das Risiko einer frühkindlichen Karies zu erhöhen (van Palenstein-Heldermaun et al. 2006). Kinder schlafen häufig mit der Brustwarze im Mund ein und weisen häufiger Mineralisationstörungen der Zahnhartsubstanz auf.

Muttermilch enthält neben Nitrogen, α -Laktalbumin, Laktoferrin, Serum-Albumin und Antikörpern (IgG und IgM) auch Laktose (Lönnerdal et al. 1976b). Lönnerdal et al. (1976a, 1976b) fanden bei schwedischen und äthiopischen Müttern einen Laktosegehalt der Muttermilch von 5,93 % – 7,78 %. Wie bei dem Gebrauch der Nuckelflasche werden die kindlichen Zähne beim nächtlichen Stillen von der Muttermilch umspült. Durch die in der Milch enthaltene Laktose und die herabgesenkte orale Clearance kommt es folgend zur Demineralisation des Zahnschmelzes (van Palenstein-Heldermaun et al. 2006).

In industrialisierten Ländern hingegen wird das nächtliche Stillen selten praktiziert und spielt deshalb in der Ätiopathogenese der frühkindlichen Karies, im Gegensatz zum Gebrauch der Babyflasche, keine bedeutende Rolle (van Palenstein-Heldermaun et al. 2006). Hallonsten et al. (1995) fanden jedoch bei schwedischen Kindern, die zu lange gestillt wurden, eine Tendenz dazu, häufiger kariogene Nahrung zu konsumieren und mehr kariogene Bakterien zu beherbergen als Kinder, die früher entwöhnt wurden. Demnach hatten diese Kinder ein erhöhtes Risiko für die Kariesentwicklung in einem frühen Alter, besonders wenn sie nach dem 18. Lebensmonat noch gestillt wurden (Hallonsten et al. 1995). Dye et al. (2004) hingegen konnten bei 2- bis 5-jährigen US-amerikanischen Kindern keine signifikante Korrelation zwischen der frühkindlichen Karies und dem Stillen feststellen. Diese Ergebnisse bestätigen, dass nicht das Stillen per se, sondern die Häufigkeit des Stillens und der Zeitpunkt des Abstillens von besonderer Bedeutung für die Kariesentstehung sind (Günay et al. 2007, de Moura Sieber et al. 2007, van Palenstein-Heldermaun et al. 2006, Wendt und Birkhed 1995).

Mütter schützen jedoch durch die positive Wirkung der mütterlichen Antikörper die Gesundheit der kindlichen Mundhöhle und des Gesamtorganismus. Wird in den ersten Lebensmonaten gestillt, ist ein kariespräventiver Effekt vorzuweisen. Insbesondere die in der Muttermilch enthaltenen IgA-Antikörper gegen orale Streptokokken, wie *S. sanguinis*, *S. mutans*, *S. mitis* und *S. salivarius* spielen dabei eine Rolle (Eggert und Gurner 1984).

Zur Bedeutung von Schmelzhypoplasien: Defizite in der Ernährung und der Gesundheit der Mutter und des Kindes haben einen wichtigen Einfluss auf die Zahnentwicklung und Empfindlichkeit gegenüber Erkrankungen des Zahnes (Rugg-Gunn et al. 1998, Li et al. 1996). So resultieren Schmelzhypoplasien häufig aus einer Mangel- bzw. Fehlernährung der Schwangeren und sind besonders bei Kindern armer Gebiete zu finden (Li et al. 1996). Arme brasilianische Kinder mit Schmelzdefekten hatten in einer Studie ein 15-Mal höheres Kariesrisiko als Kinder ohne Defekte (Oliveira et al. 2006).

Eine Mangelernährung der werdenden Mütter erhöht das Kariesrisiko im Milchgebiss, da die Zähne durch Mineralisationsstörungen des Zahnschmelzes empfindlicher hinsichtlich der Besiedlung mit kariogenen Keimen sind (Alvarez et al. 1993). Dies ist darauf zurückzuführen, dass Irregularitäten der Schmelzstruktur zusätzliche retentive Oberflächen bieten, die der bakteriellen Adhäsion dienen und dadurch zu einer erhöhten Kolonisation von Mutans-Streptokokken, verbunden mit einem höheren Karieserlebnis führen (Li et al. 1994). Li et al. (1994) fanden eine signifikante Assoziation zwischen dem Vorhandensein von Schmelzhypoplasien und hohen Speichelkeimzahlen von Mutans-Streptokokken bei drei- und vierjährigen chinesischen Kindern. Hohe Keimzahlen waren mit der Schwere der Schmelzdefekte verbunden. Schmelzhypoplasien stellen, besonders bei Kindern aus niedrigen sozioökonomischen Schichten, einen prädisponierenden Faktor für die Kariesentstehung dar, führen jedoch nur in Kombination mit anderen Faktoren wie kariogenen Bakterien, kariogener Ernährung und mangelnder Mundhygiene zum Krankheitsbild der Karies (Oliveira et al. 2006). In verschiedenen Studien bei kleinen Kindern aus Tansania und Brasilien zeigte sich ein erhöhtes Karieserlebnis, wenn Schmelzhypoplasien und nächtliches Stillen zeitgleich vorhanden waren (Oliveira et al. 2006, Matee et al. 1994).

Lai et al. (1997) bestätigten zudem den Zusammenhang zwischen einem sehr geringen Geburtsgewicht und der Ausprägung von Schmelzhypoplasien.

Um bildlich zu verdeutlichen, welche massive Besiedlung von Mikroorganismen mit der Entstehung und Progression der frühkindlichen Karies einhergeht, sollte sich die vorliegende Studie der mikrobiologischen und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung tief kariös zerstörter extrahierter Zähne kleiner Kinder widmen. Die gewonnenen Daten sollen vor allen Dingen zur Aufklärung des Ursachengefüges der frühkindlichen Karies beitragen und aufzeigen, dass eine Restauration einer hochgradig mit Mikroorganismen besiedelten Kavität zwingend erforderlich ist, um eine Kariesprogression und Involvierung neu durchgebrochener Zähne zu verhindern.

3 Zielstellung

Das Ziel der vorliegenden Studie war die bildliche Darstellung des mikrobiellen Ökosystems in kariösem Dentin tief zerstörter Milchzähne von Kindern mit frühkindlicher Karies.

Zur Objektivierung der rasterelektronenmikroskopischen Befunde sollte in einer Stichprobe kariöser Dentinproben der Kulturnachweis von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen parallel erfolgen.

Die Studie soll zum besseren Verständnis der Wechselwirkungen der Keime im kariösen Prozess beitragen und quantitative und qualitative mikrobiologische Befunde bei frühkindlicher Karies untermauern.

Die Studienergebnisse sollten darüber hinaus für die Lehre genutzt werden. Bei entsprechender Qualität der Bilder zur mikrobiellen Besiedlung kariösen Dentins von Milchzähnen wurde bereits im Vorfeld an die Entstehung eines Bildatlas für Zahnmedizinstudenten gedacht.

Als Hypothesen wurden angenommen, dass

- kariös zerstörte Zähne massiv mit Mikroorganismen besiedelt sind,
- an den kariös zerstörten Zähnen bestimmte Besiedlungsmuster von Mikroorganismen zu finden sind und
- Hefen häufig im kariösen Dentin bei Kindern mit frühkindlicher Karies vorkommen.

4 Material und Methoden

Die Studie war eingebunden in ein Forschungsvorhaben, dass einerseits retrospektiv das Erkrankungsmuster von Kindern mit frühkindlicher Karies im Patientengut der Poliklinik für Präventive Zahnheilkunde in den Jahren von 1999 bis 2006 analysieren und andererseits prospektiv der Mikroflora bei frühkindlicher Karies nachgehen sollte. Aufgabe der vorliegenden Studie in diesem Forschungsvorhaben war es, das Vorkommen von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen im kariösen Dentin rasterelektronenmikroskopisch zu dokumentieren.

4.1 Patientengut

11 Patienten (6 Knaben, 5 Mädchen) im Alter von zwei bis fünf Jahren, die im Zeitraum von 03.04.2006 bis 04.06.2007 von einer erfahrenen Kinderzahnärztin (A.B.) in der Poliklinik für Präventive Zahnheilkunde am Universitätsklinikum Jena behandelt wurden, konnten in die Studie einbezogen werden.

Im Mittel hatten die Kinder 20 Milchzähne. Bei einem Kind waren bereits die unteren mittleren Schneidezähne und bei einem anderen ein oberer mittlerer Milchschnidezahn exfoliiert. Der dmft der elf Kinder lag bei einem Wert von $11,9 \pm 4,21$ (Min. dmft 7, Max. dmft 20) (Abb. 2). Kariös betroffen waren besonders die Schneidezähne und Molaren im Oberkiefer. Im Unterkiefer waren die Molaren am stärksten kariös zerstört.

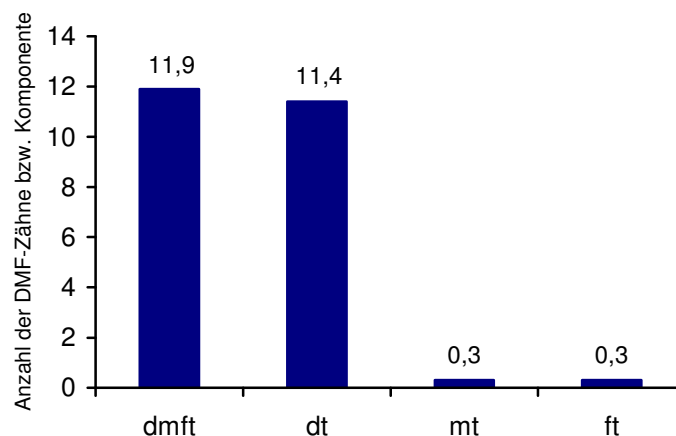


Abbildung 2: Kariesbefall (dmft) mit den Einzelkomponenten (dt = kariös, mt = fehlend, ft = gefüllt) der in die Untersuchung einbezogenen 11 Kinder

4.2 Klinisch - experimentelles Vorgehen

4.2.1 Untersuchungsgut

Von den 11 Kindern mussten im Rahmen der Gebißsanierung 41 Zähne aus Kariesgründen extrahiert werden (Abb. 3).

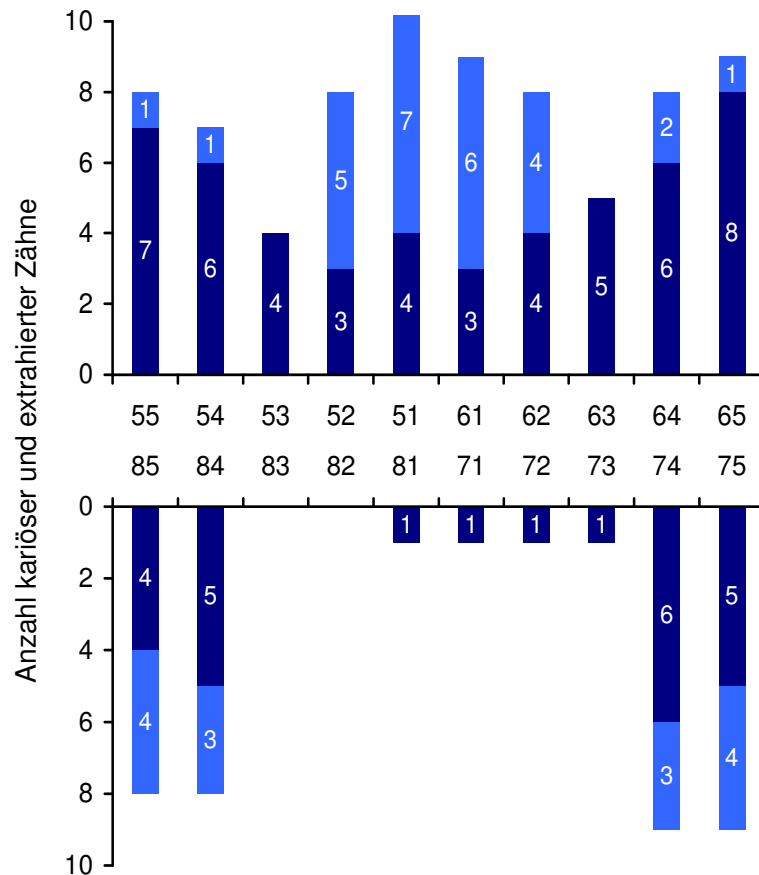


Abbildung 3: Kariöse (dt) und extrahierte (et) Zähne bei den in die Untersuchung einbezogenen 11 Kindern (Kumulative Säulendarstellung der kariösen [dunkelblau] und aus kariösen Gründen extrahierten [hellblau] Zähne)

Von diesen Zähnen wurden 33 in die rasterelektronenmikroskopische Studie einbezogen, wobei vor der Zahnextraktion bei fünf Kindern zusätzlich kariöses Dentin für eine mikrobiologische Untersuchung gewonnen werden konnte (Tab. 3). Die 8 restlichen Zähne erwiesen sich nicht als experimentell sinnvoll (massive Zerstörung, starke Bedeckung mit Blut) und wurden somit aus der Studie ausgeschlossen.

Tabelle 3: Rasterelektronenmikroskopisch (REM) und mikrobiologisch untersuchte Milchzähne

Pat.-Nr.	Alter (Jahre)	REM (Zahn)	Dentinprobe (Zahn)
1	3	51, 52, 61, 62	
2	5	55, 65	
3	4	51	
4	3	51, 64, 74, 84	
5	3	75, 85	
7	5	51, 52, 61, 62, 74, 84	51
8	5	51, 52, 61, 62	61
9	5	75	
11	2	51, 61	61
12	4	51, 52, 54, 64, 85	54
13	5	61, 85	85
Σ		33	5

4.2.2 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

Die 33 Zähne wurden in physiologischer Kochsalzlösung in das biologischen Labor des Universitätsklinikums Jena transportiert und in 2,5%igem Glutaraldehyd 30 Minuten fixiert und nachfolgend dreimal je 10 Minuten in Cacodylatpuffer passagiert. Anschließend wurden die Zähne für jeweils 30 bis 60 Minuten in einer aufsteigenden Alkoholreihe (30%, 50%, 70%) entwässert und im Exsikkator gelagert und getrocknet. Anschließend folgte das Bedampfen der Zähne mit einer Goldschicht von 25 – 30 nm (Sputter Coater BAL-TEC SCD 005, BAL-TEC AG, Balzers, Liechtenstein) und die Betrachtung im Rasterelektronenmikroskop LEO 1450 VP (Leo Elektronenmikroskopie GmbH, Oberkochen, Deutschland). Von jedem Zahn wurde zur Dokumentation eine Übersichtsaufnahme und mindestens drei Aufnahmen in unterschiedlichen Vergrößerungsstufen angefertigt; als Standard wurde eine 100- bzw. 500-fache, 1000- bzw. 2000-fache und 4500-fache Vergrößerung gewählt.

4.2.3 Mikrobiologische Untersuchungen

Mittels eines sterilen Exkavators (Firma Carl Martin, Solingen 1020/125-126) wurde von fünf Kindern vor der Zahnextraktion kariöses Dentin für mikrobiologische Untersuchungen entnommen (Tab. 3).

Das Untersuchungsgut wurde in 1 ml sterile physiologische Kochsalzlösung überführt und unmittelbar danach im Biologischen Labor aufgearbeitet.

Nach Durchmischung der Originalsuspension in einem Vortex-Schüttler (Vibrofix, VF1 Electronic Janke + Kunkel KiKa[®]-Labortechnik) folgte anschließend die Verdünnung in 4,5 ml physiologischer Kochsalzlösung in Zehnerstufen bis zu einer Verdünnungsstufe von 10^{-4} . Je 0,1 ml aus jeder Verdünnungsstufe der Untersuchungsproben wurden zur Anzucht von Mutans-Streptokokken auf drei Petrischalen mit Mitis-salivarius-Agar (Difco) mit 0,2 I.E. pro ml Bacitracin (Serva) (MSB, Gold et al. 1973), zum Nachweis der Laktobazillen auf jeweils drei Petrischalen mit Rogosaagar (Difco) und zum Nachweis von Hefen ebenso auf drei Petrischalen mit Sabouraudagar (Merck KgaA) ausgespatelt. Die Petrischalen zur Anzucht der Mutans-Streptokokken und Laktobazillen wurden 7 Tage anaerob bei 35 ± 2 °C in Anaerobiertöpfen (BBL GasPak[®]-Anaerobic System, Maryland, USA) und die der Hefen unter aeroben Verhältnissen bebrütet (Heraeus B 6760).

Nach der Bebrütung wurden von geeigneten Verdünnungsstufen des MSB-Agars makroskopisch typische Mutans-Streptokokken in ihrer Keimzahl bestimmt, ein Grampräparat angefertigt und nach Möglichkeit von jeder Untersuchungsprobe 10 Isolate, durch Passagieren auf dem gleichen Agar, gewonnen. Laktobazillen (Rogosaagar) und Hefen (Sabouraudagar) wurden nach gleichem Vorgehen in ihrer Keimzahl bestimmt und isoliert (Abb. 4).

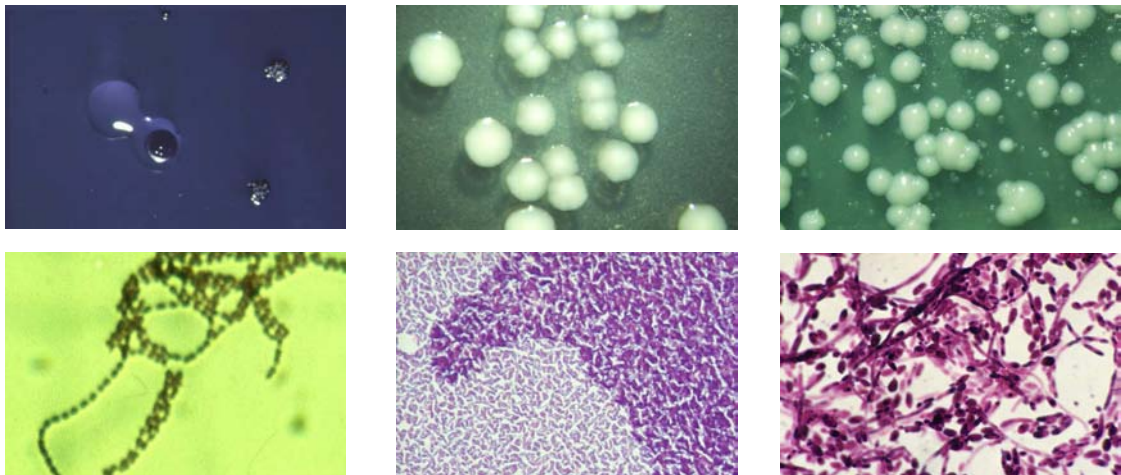


Abbildung 4: Verdünnungsreihen von Dentinproben auf Mitis-salivarius-Agar mit Bacitracin, auf Rogosaagar und Sabouraudagar (oben, von links nach rechts) mit typischen Kolonien von Mutans-Streptokokken (*S. mutans* maubeerförmige Kolonie, *S. sobrinus* Kolonie in einem Tropfen extrazellulärer Polysaccharide), Laktobazillen und Hefen (oben, von links nach rechts) und entsprechende Grampräparate von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen (unten, von links nach rechts)

4.2.3.1 Bakterienstämme und Hefen

Von den fünf Dentinproben wurden insgesamt 50 Streptokokken-, 51 Laktobazillen- und 40 Isolate von Hefen als Reinkulturen gewonnen (Tab. 4).

Tabelle 4: Aus kariösem Dentin gewonnene Isolate von Streptokokken, Laktobazillen und Hefen

Patient	Wildstämme Streptokokken	Wildstämme Laktobazillen	Wildstämme Hefen
7	10	0	10
8	10	12	10
11	10	9	10
12	10	20	10
13	10	10	0
Σ	50	51	40

Alle Subkulturen wurden 48 Stunden bebrütet und daraufhin in ihrer Reinheit erneut im Grampräparat und KOH-Test kontrolliert sowie nochmals auf Hirn-Herz-Blutagar

(Difco, mit 5% Humanerythrozytenkonzentrat, Institut für Transfusionsmedizin am Universitätsklinikum Jena) passagiert (Abb. 5).

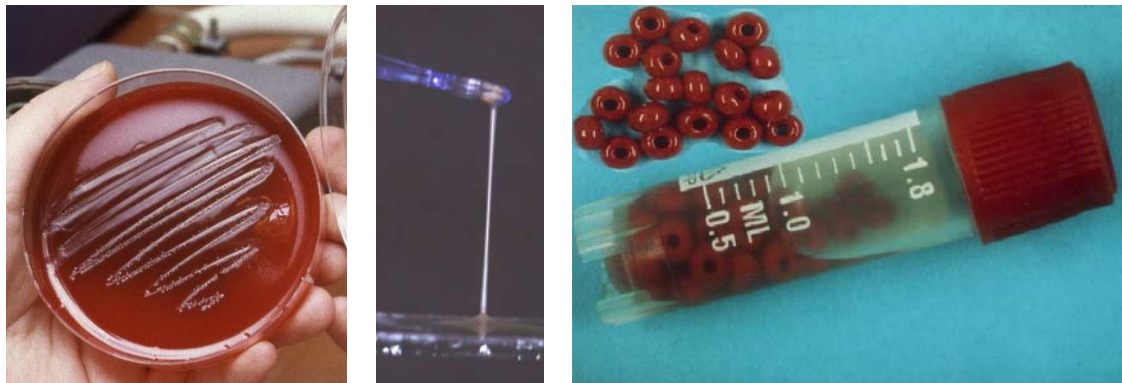


Abbildung 5: Reinkultur eines Mutans-Streptokokken-Isolates, Verifizierung der Gramreaktion mit dem KOH-Test („Spinnenfäden“ bei Gram-negativen Keimen) der Reinkultur und Konservierung des Isolates in MicrobanksTM (Pro-LAB, Ontario, Canada)

Zur späteren Identifizierung wurde von den Reinkulturen eine Arbeitssammlung angelegt. Keramikperlen in MicrobanksTM (Pro-LAB, Ontario, Canada) wurden mit den auf selektiven, festen Kulturmedium jeweils angezüchteten Streptokokken (Balmelliagar), Laktobazillen (Rogosaagar) bzw. Hefen (Sabourauagar) beladen und im Tiefkühlschrank bei -18°C gehalten (Abb. 5). Zur Aktivierung der Stämme wurden 2 bis 3 Keramikperlen in Balmellibouillon eingebracht und erneut 2 Tage anaerob bei $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ in Anaerobiertöpfen bzw. aerob (Hefen) bebrütet.

4.2.3.1.1 Zur Identifizierung der Streptokokken

Von den fünf Patienten wurden insgesamt 50 Streptokokkenisolate als Reinkulturen gewonnen, die geordnet nach ihrer Herkunft in Tabelle 5 enthalten sind.

Tabelle 5: Isolate von Mutans-Streptokokken aus kariösem Dentin von fünf Kindern mit früh-kindlicher Karies

Patient	Wildstämme (Isolatnummer)	Anzahl
7	42/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10	10
8	11/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10	10
11	61/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10	10
12	48/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10	10
13	57/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10	10
Σ		50

Zur Identifizierung wurden die Mutans-Streptokokken-Stämme zunächst orientierend untersucht. Sie erwiesen sich alle als Katalase negativ (Abb. 5). Durch Testung der Metronidazolempfindlichkeit (50 µg) wurden Peptostreptokokken von Pneumokken und Streptokokken abgegrenzt, durch Optochinempfindlichkeit (20 µg) Pneumokokken von Streptokokken und durch Vancomycinempfindlichkeit (5 µg) orale Streptokokken von Laktobazillen (Abb. 6). Durch die Prüfung der Säureproduktiom aus Mannitol wurden Mutans-Streptokokken von oralen Streptokokken abgegrenzt. Unter den Mutans-Streptokokken wurde *S. mutans* von *S. sobrinus* durch eine negative Peroxidasereaktion unterschieden (Abb. 6). Durch den Bacitracingehalt des MSB-Agars handelt es sich nach Whiley und Beighton (1998) bei Melibiose-positiven Isolaten um die Serotypen c, e oder f von *S. mutans*.



Abbildung 6: Testung der Antibiotikaempfindlichkeit (links) und Peroxidasereaktion (rechts, *S. sobrinus* V 100 positiv)

4.2.3.1.2 Zur Identifizierung der Laktobazillen

51 Laktobazillen-Wildstämme konnten aus den fünf Dentinproben gewonnen werden, die geordnet nach ihrer Herkunft in Tabelle 6 enthalten sind.

Tabelle 6: Isolate von Laktobazillen aus kariösem Dentin von fünf Kindern mit frühkindlicher Karies

Patient	Wildstämme (Isolatnummer)	Anzahl
7	keine Isolate	
8	12/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10, /11, 13/1	12
11	62/2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10	9
12	49/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10 50/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10	20
13	58/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10	10
Σ		51

Alle Isolate konnten als Laktobazillenstämme bestätigt werden; sie erwiesen sich alle als Katalase und KOH-negativ (Abb. 5). Die Vancomycinresistenz (5 µg), die Laktobazillen von kokkoiden Streptokokken abgrenzt, wurde überprüft. Neun der 51 Isolate erwiesen sich als vancomycinempfindlich und wurden nicht als Laktobazillen bestätigt (Tab. 7).

Tabelle 7: Neun vancomycinempfindliche Isolate von Laktobazillen aus kariösem Dentin von fünf Kindern mit frühkindlicher Karies

Patient	Untersuchungs- gut	Vancomycin empfindliche Stämme (Isolatnummer)	Anzahl
12	Dentin	49/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9	9

4.2.3.1.3 Zur Identifizierung der Hefen

40 Hefen wurden als Reinkultur (Tab. 8) isoliert.

Tabelle 8: Isolate von Hefen aus kariösem Dentin von fünf Kindern mit frühkindlicher Karies

Patient	Wildstämme (Isolatnummer)	Anzahl
7	43/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10	10
8	15/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10	10
11	63/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10	10
12	51/1, /2, /3, /4, /5, /6, /7, /8, /9, /10	10
13	keine Isolate	
Σ		40

Hefekolonien unterscheiden sich von den Kolonien der Laktobazillen durch ihr matt glänzendes, cremefarbenes Aussehen und ihre positive Katalasereaktion (Abb. 7).

**Abbildung 7:** Postive Katalasereaktion („Sprudeln“) von *Candida albicans* auf Sabouraudagar bei Auftropfen von H_2O_2 (30%ig)

Hefen bilden auf Reisagar ein charakteristisches Pseudomyzel bzw. *C. albicans* Chlamydosporen (Abb. 8) und sind daher einfach zu identifizieren.

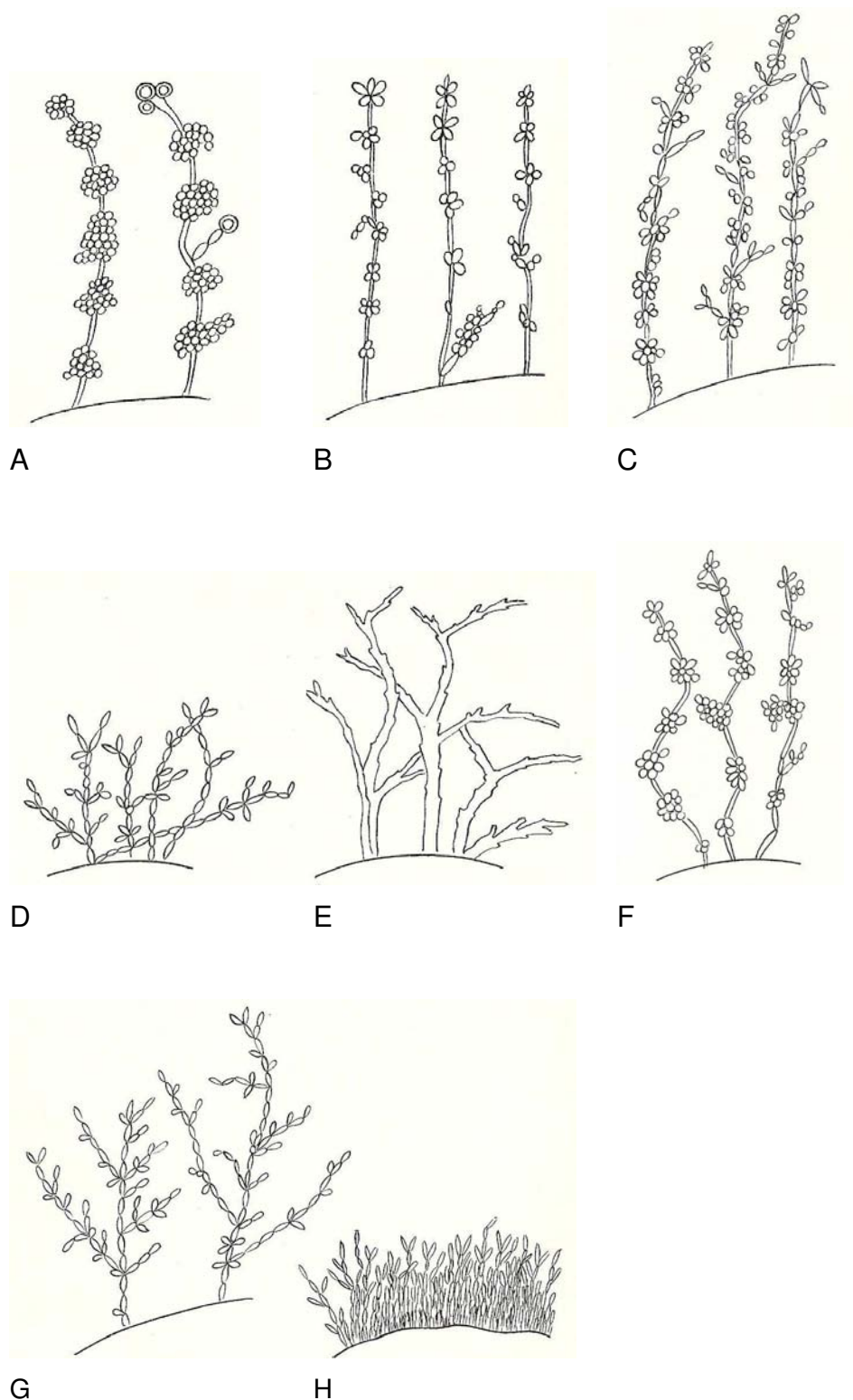


Abbildung 8: Filamentationsformen von *Candida*-Arten auf Reisagar (Koch 1977): (A) *C. albicans*, (B) *C. tropicalis*, (C) *C. guilliermondii*, (D) *C. krusei* Filamentationsform I, (E) *C. krusei* Filamentationsform II, (F) *C. krusei*, Filamentationsform III, (G) *C. pseudotropicalis* Filamentationsform I, (H) *C. pseudotropicalis* Filamentationsform II

Die Stämme wurden V-förmig auf Reisagar (Abb. 9) verimpft und bis zu 7 Tage aerob bei $28 \pm 2^\circ\text{C}$ (Heraeus B 6760) bebrütet. Bei schwacher Vergrößerung (10-fach) wurde das Wachstum der Isolate entlang des jeweiligen Impfstriches beurteilt.



Abbildung 9: V-förmiges Wachstum Hefen auf Reisagar (links) und *C. albicans* mit Chlamydosporen (rechts) (10-fache Vergrößerung)

4.3 Biostatistische Auswertung

Die Datenpflege erfolgte mit dem Softwarepaket SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Version 15.0. Alle univariaten Analysen sowie deskriptiven Auswertungen wurden anhand dieses Programmes erstellt.

5 Ergebnisse

5.1 Mikrobiologische und rasterelektronenmikroskopische Ergebnisse zum Vorkommen von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen im kariösen Dentin von Kindern mit frühkindlicher Karies

Um abzusichern, dass rasterelektronenmikroskopische Befunde zum Vorkommen von Streptokokken (Mutans-Streptokokken), Laktobazillen (Stäbchen bis fadenförmige Formen) und Hefen in tief kariös zerstörten Milchzähnen richtig beurteilt werden, wurde in fünf Fällen das kariöse Dentin parallel als eine Form der „Kalibrierung“ auch kulturell aufgearbeitet, bevor die übrigen 28 Zähne ausschließlich rasterelektronenmikroskopisch bei unterschiedlichen Vergrößerungsstufen beurteilt wurden.

Fadenförmige Laktobazillen und das Pseudomyzel von Hefen unterscheiden sich optisch deutlich durch einen erheblichen Größenunterschied in Durchmesser und Länge. Die in der Mundhöhle vorkommenden Laktobazillen können dabei einen Durchmesser von 0,5 µm bis 1,6 µm aufweisen, wobei sie in ihrer Länge von 1,5 bis 11 µm variieren können (Kandler und Weiss 1986). Typisch für die Laktobazillen ist die Ausbildung von Palisaden. Für Hefen sind die so genannten „Geburtsnarben“ nach Abtrennung der Blastosporen unübersehbar, und die Sprosszellen haben einen Durchmesser von 3 bis 7 µm und eine Länge von 3,5 bis 12,5 µm (Abb. 8A, 9) (Koch 1977).

Aus dem kariösen Dentin der fünf Zähne konnten alle drei Keimgruppen angezüchtet werden (Tab. 9). Mutans-Streptokokken lagen im Mittel über den Keimzahlen der Laktobazillen; Laktobazillen und Hefen (*C. albicans*, *C. krusei*) lagen im Mittel in gleicher Größenordnung vor (Tab. 9).

Insgesamt wurden 50 Isolate gewonnen und als Mutans-Streptokokken identifiziert; darunter in 45 Fällen *Streptococcus mutans* und in 5 Fällen *Streptococcus sobrinus* (Tab. 9). Bei 51 stäbchen- bis fadenförmigen Isolaten handelte es sich um Laktobazillen; eine Artbestimmung wurde nicht vorgenommen (Tab. 9). Lediglich in einer Untersuchungsprobe kamen keine Laktobazillen vor. Von Sabouraudagar wurden 40 Isolate gewonnen und als Hefen identifiziert.

Candida albicans dominierte nahezu ausschließlich die Keimzahlen des kariösen Dentins; *Candida krusei* kam lediglich in der Dentinprobe eines Kindes mit einer Häufigkeit von 40% vor (Tab. 9).

Tabelle 9: Zum quantitativen Vorkommen (log CFU) von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen (*C. albicans*, *C. krusei*) im kariös erweichten Dentin von fünf Zähnen bei Kindern mit frühkindlicher Karies

Pat.-Nr.	Zahn	Keimzahl (log CFU) Streptokokken	Laktobazillen	Hefen
7	51	3.9208	0.3010	1.5682
				<i>C. albicans</i> 60%
				<i>C. krusei</i> 40%
8	61	4.5658	2.3480	3.1230
11	61	4.8846	2.5721	0.3010
12	54	3.9208	2.1249	2.5910
13	85	4.9542	4.8016	0.3010
Mittelwert		4.4492	2.4295	1.5768
± Standardabweichung		0.5041	1.6029	1.2918

Alle drei Keimgruppen konnten auch in den gleichen Dentinproben rasterelektronenmikroskopisch nachgewiesen werden. In zwei Dentinproben wurden Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen sowohl kulturell als auch rasterelektronenmikroskopisch nachgewiesen. In einer Dentinprobe wurden Mutans-Streptokokken zusammen mit Laktobazillen angezüchtet und in den übrigen zwei Fällen gelang ein Nachweis von Laktobazillen nur rasterelektronenmikroskopisch bzw. nur die Anzucht von *C. albicans* (Tab. 10).

Tabelle 10: Kulturnachweis und rasterelektronenmikroskopische Erfassung (REM) von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen (*Candida*) im kariösen Dentin von fünf Milchzähnen

Patient/ Zahn	Mutans-Streptokokken		Laktobazillen (filamentöse Stäbchen)		Candida	
	Kulturell	REM	Kulturell	REM	Kulturell	REM
8/61	+	+	+	+	+	+
11/61	+	+	+	+	+	+
13/85	+	+	+	+	-	-
7/51	+	+	-	+	+	+
12/54	+	+	+	+	+	-

Die nachfolgenden rasterelektronenmikroskopischen Bilder zeigen Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen (*Candida albicans*) aus den 5 Dentinproben, in denen zugleich der entsprechende Kulturnachweis erfolgte (Abb. 10 bis 14).

Abbildung 10 und 11 zeigen das Pseudomyzel und Sprosszellen von Hefen sowie kurze Laktobazillen und Mutans-Streptokokken. Letztere haften am Pseudomyzel. In Abbildung 10 sind zusätzlich die „Geburtsnarben“ der Hefen markiert. In Abbildung 12 sind massenhaft Mutans-Streptokokken und Laktobazillen vorhanden, die sich zu einem sogenannten „Bakterienrasen“ formieren. Abbildung 13 zeigt ebenfalls Hefen mit der Ausbildung von Blastosporen sowie vereinzelte Mutans-Streptokokken am Pseudomyzel der Hefen haftend und kurze Stäbchen. In Abbildung 14 sind Laktobazillen und sogenannte „Maiskolben“, in diesem Fall bestehend aus Mutans-Streptokokken und filamentösen Stäbchen, zu sehen.

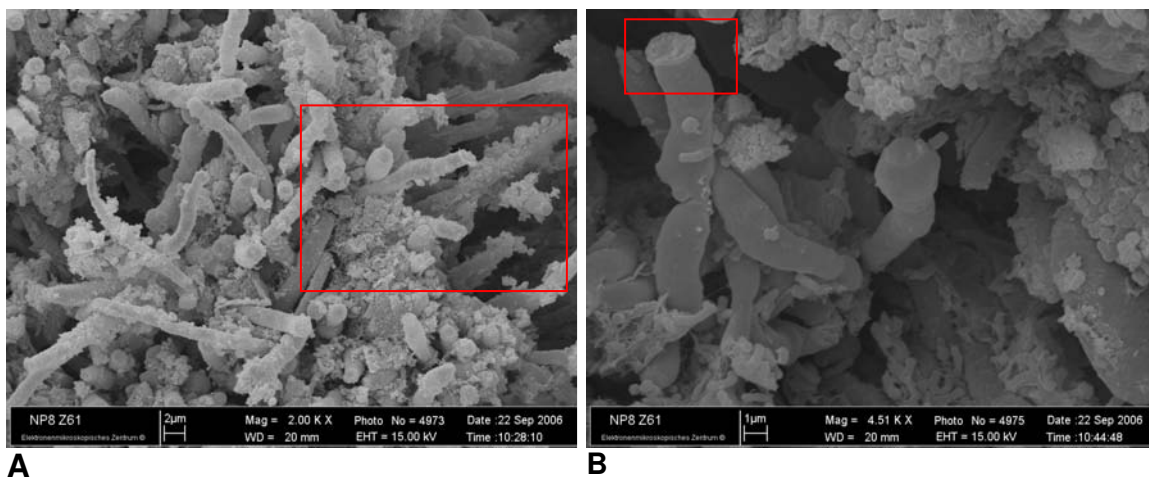


Abbildung 10: Zahn 61 Patient 8. **A** Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und *C. albicans* mit Pseudomyzel, (Vergrößerung 2000-fach); **B** Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und *C. albicans* mit „Geburtsnarben“ (Vergrößerung 4500-fach)

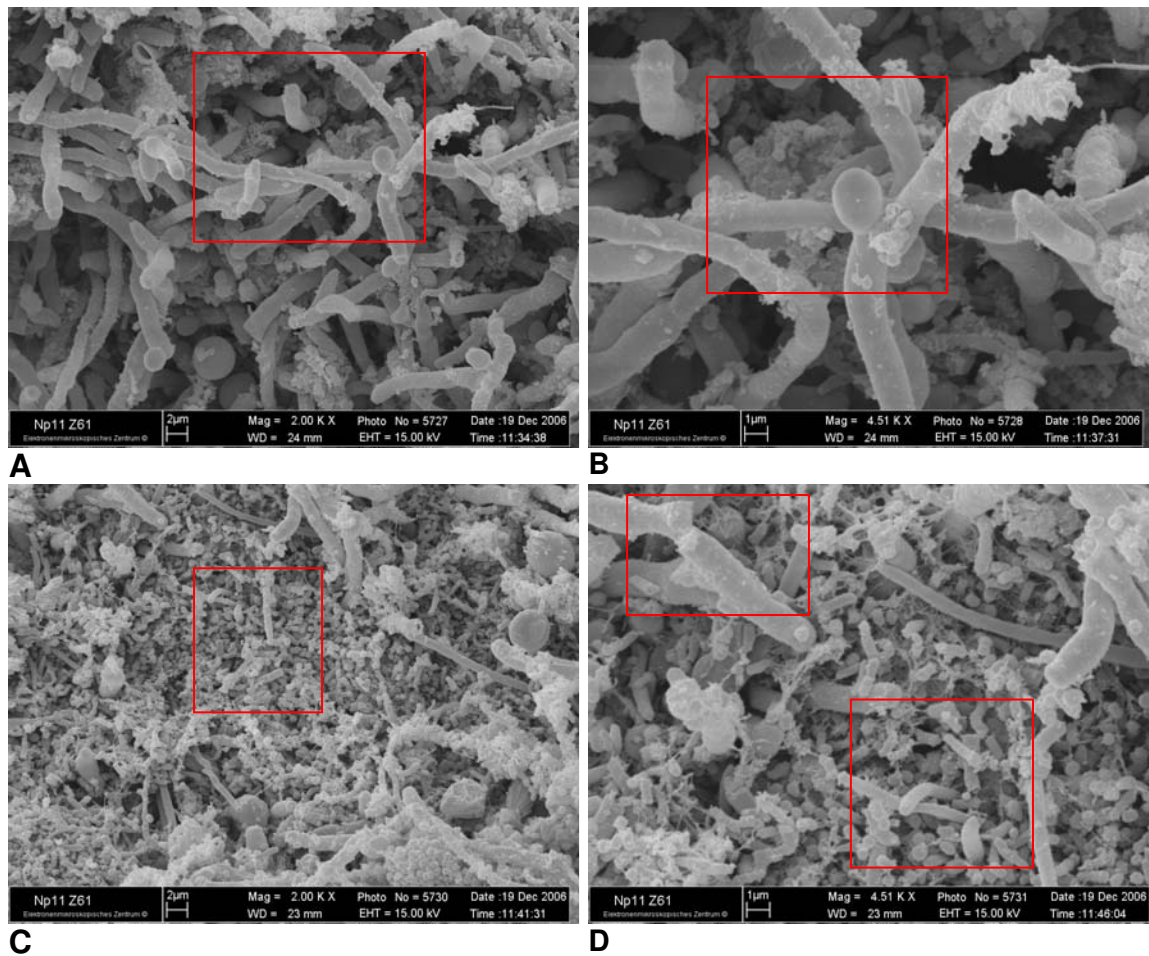


Abbildung 11: Zahn 61 Patient 11. **A** und **B** Mutans-Streptokokken, Laktobazillen sowie *C. albicans* mit Pseudomyzel und Sprosszellen (Vergrößerung 2000- und 4500-fach); **C** Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und *C. albicans* (Vergrößerung 2000-fach); **D** Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und *C. albicans* (Vergrößerung 4500-fach)

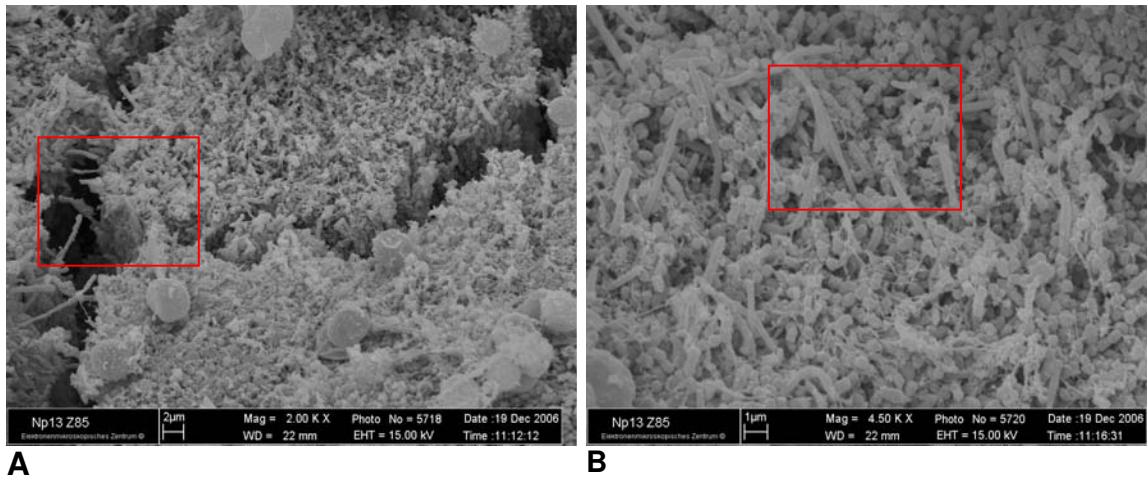


Abbildung 12: Zahn 85 Patient 13. **A** „Bakterienrasen“ bestehend aus Mutans - Streptokokken und Laktobazillen (Vergrößerung 2000-fach); **B** Mutans-Streptokokken und Laktobazillen (Vergrößerung 4500-fach)

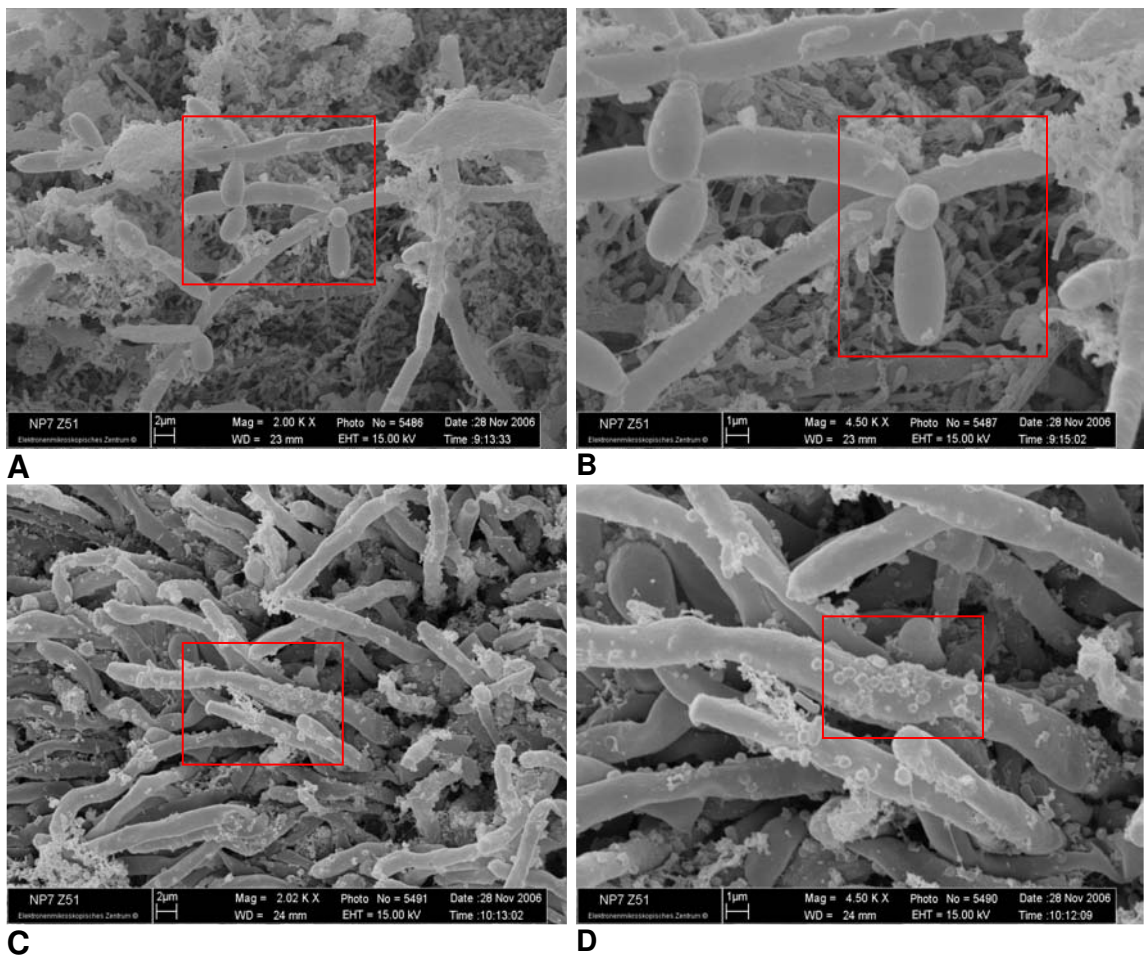


Abbildung 13: Zahn 51 Patient 7. **A** und **B** kurze Stäbchen sowie Hefen mit Pseudomycel und Sprosszellen (Vergrößerung 2000- und 4500-fach); **C** und **D** Mutans-Streptokokken haften am Pseudomycel der Hefen (Vergrößerung 2000- und 4500-fach)

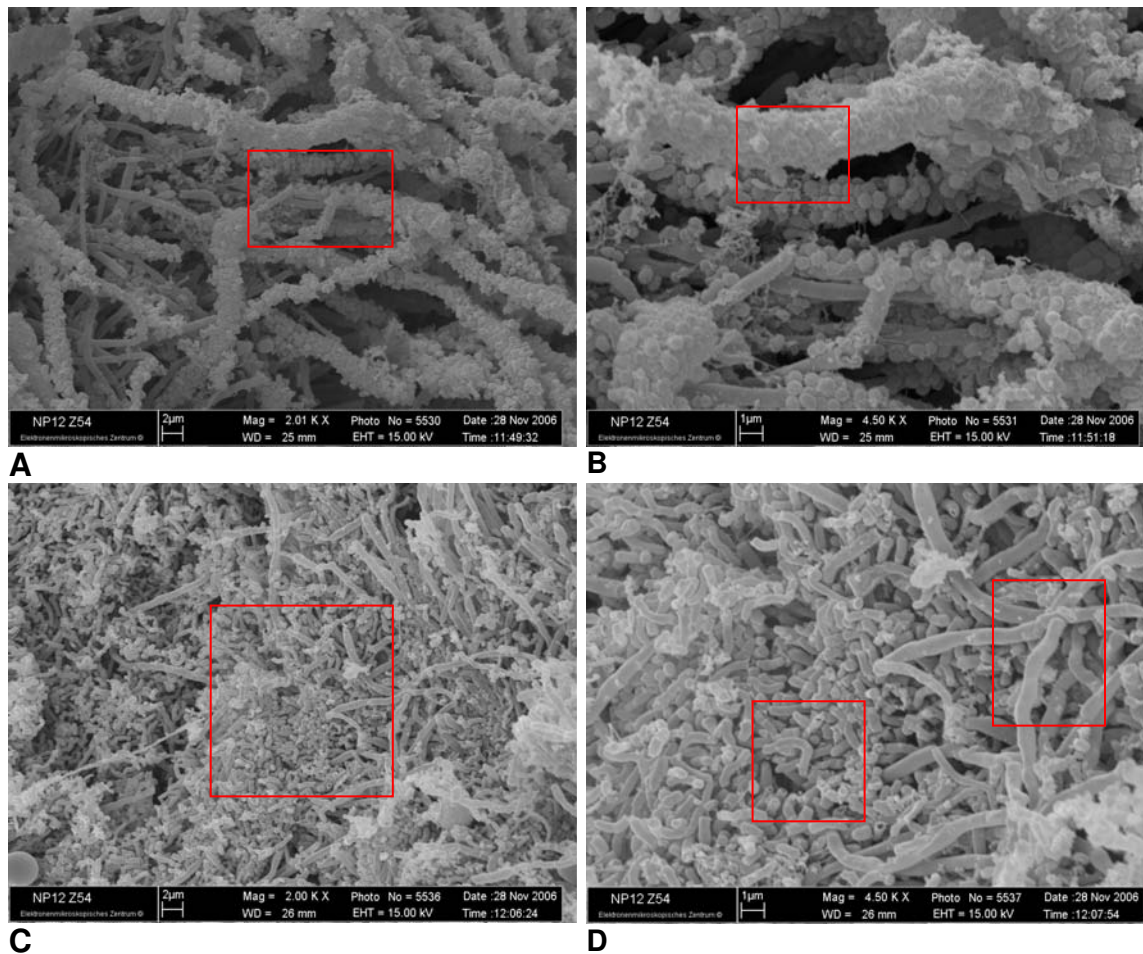


Abbildung 14: Zahn 54 Patient 12. **A** und **B** Mutans-Streptokokken haften an Laktobazillen und bilden die so genannten „Maiskolben“ (Vergrößerung 2000- und 4500-fach); **C** und **D** Mutans-Streptokokken sowie Laktobazillen unterschiedlicher Größe (Vergrößerung 2000- und 4500-fach)

5.2 Rasterelektronenmikroskopische Ergebnisse zum Vorkommen von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen im kariösen Dentin von Kindern mit frühkindlicher Karies

Von den 33 Milchzähnen wurden 28 Zähne ausschließlich rasterelektronenmikroskopisch hinsichtlich des Vorkommens von Streptokokken (Mutans-Streptokokken), filamentösen Stäbchen (Laktobazillen) und Hefen im kariösen Dentin untersucht (Abb. 15). Bei den zuvor auch mikrobiologisch-rasterelektronenmikroskopisch aufgearbeiteten 5 Milchzähnen bzw. Dentinproben konnten alle 50 Streptokokkenisolate als Mutans-Streptokokken identifiziert werden. 51 stäbchenförmige Isolate wurden als Laktobazillen bestätigt und bei 40 isolierten Hefen handelte es sich mehrheitlich um *C. albicans*.

Die nachfolgende rasterelektronenmikroskopische Ergebnisdarstellung aller 33 Milchzähne schließt die 5 mikrobiologisch kontrollierten Zähne ein und erfolgt auf der Grundlage der mikrobiologisch-rasterelektronenmikroskopischen Kalibrierung letzterer.

Der makroskopische Nachweis von Streptokokken wird weiterführend nunmehr dem Vorkommen von Mutans-Streptokokken gleichgesetzt, der Nachweis von filamentösen Stäbchen dem Vorkommen von Laktobazillen sowie der makroskopische Nachweis von Pseudomyzel und Blastosporen dem Vorkommen von *C. albicans* (*C. krusei*).

In den 33 Milchzähnen von 11 Kindern konnten rasterelektronenmikroskopisch bei allen Kindern Mutans-Streptokokken nachgewiesen werden. Mit einer Ausnahme waren auch Laktobazillen präsent (Tab. 11). Hefen besiedelten bei acht von elf Kindern die Dentinproben (Tab. 11). Alle rasterelektronenmikroskopischen Bilder sind gesondert in einem Bildband (Anhangsband) geordnet.

Bezogen auf Zahngruppen bzw. Zahnarten wurden insgesamt zwölf mittlere und sieben seitliche obere Milchschnidezähne, drei erste und zwei zweite Oberkiefermilchmolaren sowie vier erste und fünf zweite Unterkiefermolaren unter dem Rasterelektronenmikroskop betrachtet.

93,9 % der insgesamt rasterelektronenmikroskopisch untersuchten Zähne waren mit Mutans-Streptokokken, 97 % mit Laktobazillen und 48,5 % mit Hefen besiedelt (Tab. 12).

91,7 % der *mittleren* oberen Milchschnidezähne beherbergten Mutans-Streptokokken, 91,7 % Laktobazillen und 66,7 % Hefen.

In allen oberen *seitlichen* Milchschnidezähnen kamen Mutans-Streptokokken und Laktobazillen vor; 71,4 % der oberen seitlichen Milchschnidezähne beherbergten Hefen.

66,7 % der *ersten* oberen Milchmolaren waren mit Mutans-Streptokokken besiedelt, alle mit Laktobazillen und 33,3 % mit Hefen. Im kariösen Dentin aller oberen *zweiten* Milchmolaren kamen sowohl Mutans-Streptokokken als auch Laktobazillen vor; in 66,7 % der Fälle gelang der Nachweis von Hefen.

Auch alle unteren *ersten* und *zweiten* Milchmolaren waren mit Mutans-Streptokokken und Laktobazillen infiziert; Hefen konnten nicht nachgewiesen werden.

Tabelle 11: Rasterelektronenmikroskopische Erfassung von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen im kariösen Dentin von 33 Milchzähnen von 11 Kindern mit frühkindlicher Karies

Patient/ Zahn	Mutans- Streptokokken	Laktobazillen	Hefen (<i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i>)
1/51	+	+	-
1/52	+	+	+
1/61	+	+	+
1/62	+	+	+
2/55	+	+	+
2/65	+	+	+
3/51	+	-	+
4/51	+	+	+
4/64	-	+	-
4/74	+	+	-
4/84	+	+	-
5/75	+	+	-
5/85	+	+	-
7/51	+	+	+
7/52	+	+	+
7/61	+	+	-
7/62	+	+	-
7/74	+	+	-
7/84	+	+	-
8/51	+	+	+
8/52	+	+	+
8/61	+	+	+
8/62	+	+	+
9/75	+	+	-
11/51	+	+	+
11/61	+	+	+
12/51	+	+	-
12/52	+	+	-
12/54	+	+	-
12/64	+	+	+
12/85	+	+	-
13/61	+	+	-
13/85	+	+	-

Tabelle 12: Vorkommen (in Prozent) von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen im kariösen Dentin ausgewählter Zahnarten im Milchgebiss

Zahngruppe Zahnart	Mutans- Streptokokken	Laktobazillen	Hefen (<i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i>)
Oberkiefer			
Mittlere Schneidezähne (n = 13)	91,7	91,7	66,7
Seitliche Schneidezähne (n = 7)	100	100	71,4
Erste Molare (n = 3)	66,7	100	33,3
Zweite Molare (n = 2)	100	100	66,7
Unterkiefer			
Erste Molare (n = 4)	100	100	0
Zweite Molare (n = 5)	100	100	0

Die Besiedlung der untersuchten Zähne mit Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen (*C. albicans*, *C. krusei*) ist zur besseren Übersicht in Abbildung 15 dargestellt.

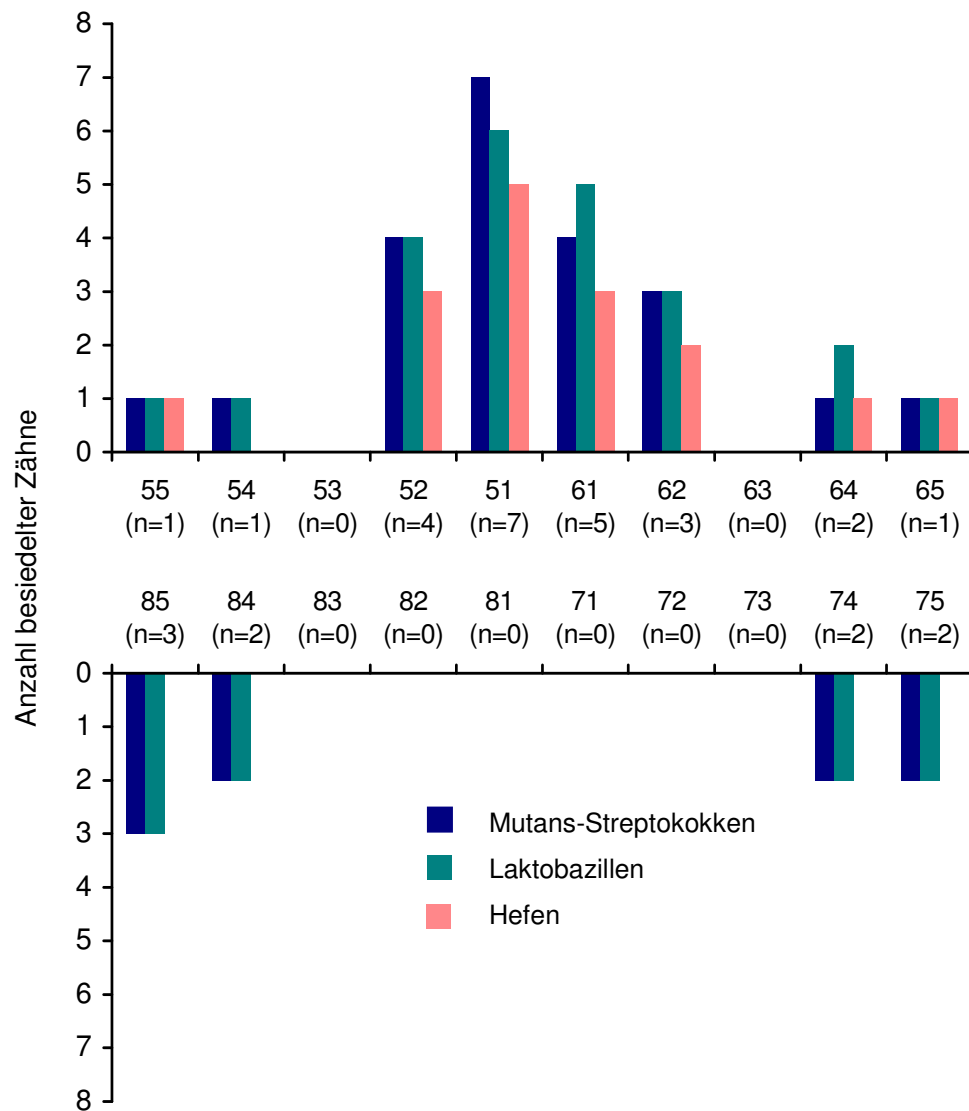


Abbildung 15: Vorkommen von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen (*C. albicans*, *C. krusei*) in der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung von 33 extrahierten Zähnen von 11 Kindern (n = Anzahl der untersuchten Zähne)

9 Diskussion

In den vergangenen Jahrzehnten wurden weltweit zahlreiche klinische und mikrobiologische Studien zur frühkindlichen Karies durchgeführt. Sie widmeten sich der klinischen Erscheinungsform des Krankheitsbildes, dem Ursachengefüge und der Erfassung der Keime im Speichel und in der Plaque der betroffenen Kinder (Kneist und Borutta 2005, Kneist et al. 2004b, Borutta et al. 2002, Douglass et al. 2001, Toi et al. 1999, Wyne 1999, Davies 1998, Karn et al. 1998, Milnes 1996, Zoitopoulos et al. 1996, Matee et al. 1992, Ripa 1988, Wetzel 1988, Berkowitz et al. 1984, van Houte et al. 1982, Wetzel 1982).

Im Schrifttum existieren jedoch keine umfassenden Studien zur rasterelektronenmikroskopischen Untersezung klinischer und mikrobiologischer Befunde von Milchzähnen bei frühkindlicher Karies. Koçkapan und Wetzel (1983) flankierten in Einzelfällen klinisch-mikrobiologische Untersuchungen zur frühkindlichen Karies rasterelektronenmikroskopisch und maßen frühzeitig Hefen, die bei ersten Studien kulturell noch nicht erfasst wurden, eine Bedeutung im Krankheitsverlauf bei. Dass Hefen zu einer schnellen Progression der frühkindlichen Karies beitragen, unterstreichen auch Klinke et al. (2009).

Die vorliegende Studie sollte mit der morphologischen Vielfalt der Keimbesiedlung des kariösen Dentins von Milchzähnen zwei- bis fünfjähriger Kinder das Ursachengefüge der frühkindlichen Karies bzw. Karies bei Vorschulkindern untersetzen und damit das Gesundheitsrisiko des Krankheitsbildes verdeutlichen. Bei der Anzahl von 33 Zähnen sollte darüber hinaus betrachtet werden, ob zahnbezogen Besiedlungsunterschiede vorliegen könnten.

Insgesamt konnte in allen Kavitäten bzw. kariösen Dentinproben der Milchzähne eine massive Besiedlung mit azidogenen und azidurischen Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und zu einem großen Teil auch mit Hefen nachgewiesen werden. Parolo und Maltz (2006) bestätigten die vorliegenden Ergebnisse rasterelektronenmikroskopisch für kariöse Läsionen im Allgemeinen; die Autoren untersuchten im Vergleich zur vorliegenden Studie kariöse Läsionen extrahierter Prämolaren und bleibender Molaren mit 10 aktiven und 14 inaktiven Glattflächenläsionen sowie 5 intakte Zahnflächen.

Im Laufe der vorliegenden Studie entstand durch standardisiert aufgenommene rasterelektronenmikroskopische Bilder eine Bilddokumentation (Anhangsband) zur

mikrobiellen Besiedlung des kariösen Milchzahndentins, die im Fachgebiet Kinderzahnheilkunde in der Lehre der Zahnmedizinstudenten eingesetzt werden kann. Zudem könnte anhand der Bilddokumentation im Rahmen der Mikrobiologie-Vorlesung die orale Mikrobiologie besser reflektiert werden. Die Nutzung des Bildbandes kann bereits in den vorklinischen Semestern zu einem besseren Verständnis der Kariespathogenese des Kindes und des Erwachsenen beitragen.

Entsprechend des Krankheitsbildes der frühkindlichen Karies und Karies bei Vorschulkindern wurden insbesondere obere Schneidezähne in die Untersuchung einbezogen und obere und untere Milchmolaren von Kindern mit fortgeschrittenem Krankheitsbild. Es handelte sich um 33 Milchzähne, die im Zeitraum eines Studienjahres (2006/2007) bei der Behandlung von Klein- und Vorschulkindern in Intubationsnarkose in der Universitätspoliklinik für Präventive Zahnheilkunde extrahiert werden mussten.

In der Analyse des Patientengutes in den Jahren von 1999 bis 2006 wurden in der Poliklinik insgesamt 309 Kinder mit frühkindlicher Karies unter Intubationsnarkose behandelt (Abb. 16) (Grimmer 2009). Im Mittel wurden bei jedem Kind drei Zähne extrahiert und 7 Zähne unter Intubationsnarkose versorgt. Eckzähne wurden möglichst wegen ihrer Bedeutung für das bleibende Gebiss bzw. die Gebissentwicklung erhalten. Es handelte sich mehrheitlich um zwei-, drei- und vierjährige Patienten neben ein- und fünf- und sechsjährigen Patienten (Abb. 17).

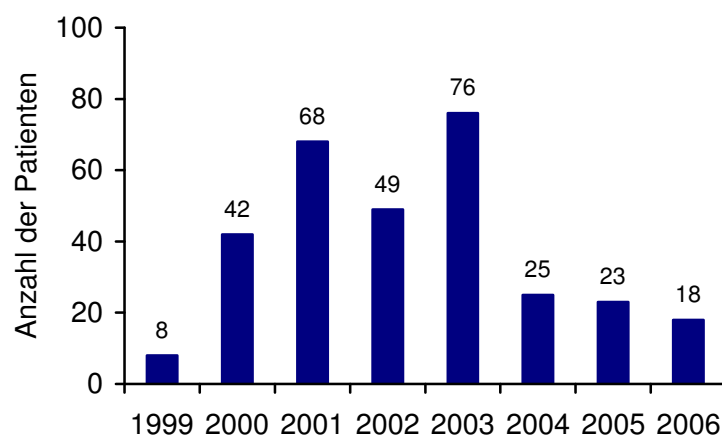


Abbildung 16: Anzahl der in die Poliklinik für Präventive Zahnheilkunde am Universitätsklinikum Jena überwiesenen Kinder ($n = 309$) mit frühkindlicher Karies in den Jahren von 1999 bis 2006 (1999 $n = 8$, 2000 $n = 42$, 2001 $n = 68$, 2002 $n = 49$, 2003 $n = 76$, 2004 $n = 25$, 2005 $n = 23$, 2006 $n = 18$) (Grimmer 2009)

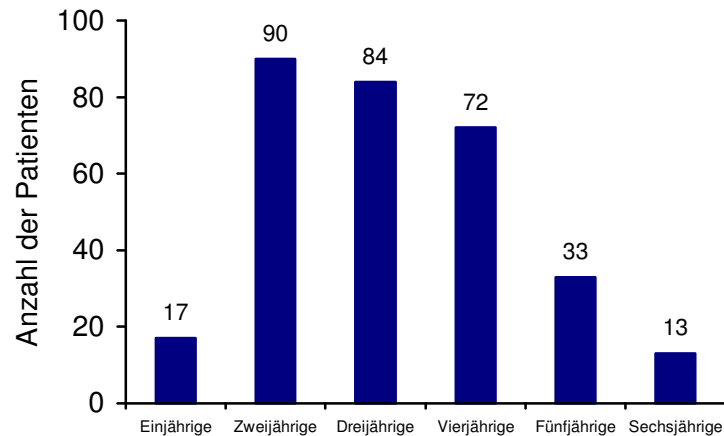


Abbildung 17: Anzahl der behandelten Kinder (n = 309) mit frühkindlicher Karies in den Altersgruppen in den Jahren von 1999 bis 2006 (Grimmer 2009)

Im Jahr 2006 wurde 18 Patienten behandelt; von 11 dieser Patienten wurden 33 Zähne rasterelektronenmikroskopisch und in einem Stichprobenumfang davon auch 5 Zähne vergleichend mikrobiologisch untersucht. Die vergleichende rasterelektronenmikroskopische und kulturelle Untersuchung der kariösen Zähne bzw. Dentinproben sollte der Kalibrierung dienen. So konnten nachfolgend auch Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen durch die parallelen Nachweise in den rasterelektronenmikroskopischen Bildern allein objektiv zugeordnet werden (Tab. 10); eine Artbestimmung war rasterelektronenmikroskopisch allerdings nicht möglich.

Streptokokken imponierten als Kokken in kurzen und längeren Ketten, in charakteristischen Anhäufungen und als sogenannte „Maiskolben“ (Kaufman und DiRienzo 1989), adhäriert an fädigen Bakterienformen und Hefen. Laktobazillen, Aktinomyzeten und Bifidobakterien zählen zu den stäbchenförmigen Mikroorganismen. Bifidobakterien und Aktinomyzeten sind jedoch bereits morphologisch von Laktobazillen abgrenzbar. So zeigen Bifidobakterien V- und Y-Formen mit keulenartigen Verdickungen (Bernhardt 2004), und Aktinomyzeten besitzen im Gegensatz zu Laktobazillen Verzweigungen (Sanderink 2004, Marsh und Martin 2003). Die genannten morphologischen Formen konnten im kariösen Dentin der zwei- bis vierjährigen Kinder mit frühkindlicher Karies dargestellt werden und auch im kariösen Dentin der Milchzähne der fünfjährigen Vorschulkinder.

Milchzahnkaries ist eine Plaque-vermittelte Erkrankung. Plaque bzw. Biofilm (Marsh 2004, Marsh und Bradshaw 1997) und auch das vorliegend kariöse Dentin der

Milchzähne zeichnen sich durch eine hohe Diversität der Mikroorganismen und eine geordnete Struktur aus.

Die Kariesentstehung selbst setzt ein Ungleichgewicht zwischen residenter Mikroflora zugunsten einer Etablierung kariogener Keime in der Plaque voraus (Marsh 2009, Marsh 2006, Marsh 2004, Kleinberg 2002, Marsh und Bradshaw 1997). Bei neutralem pH-Wert sind kariogene Bakterien wie Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und natürlich auch Hefen nur in einer geringen Anzahl zu finden und klinisch nicht relevant (Marsh 2003). De- und Remineralisation befinden sich im Gleichgewicht. Durch veränderte Umgebungsbedingungen (z.B. häufiger Verzehr von zuckerhaltigen Nahrungsmitteln, Abnahme des Speichelflusses und Schwächung bzw. eine noch nicht entwickelte Immunabwehr) kommt es zur Verlagerung dieses Gleichgewichtes in Richtung azidogener und azidurischer Keime, deren Keimzahlen stark ansteigen (Marsh 2009). Azidogene Keime können Zucker sehr schnell zu Säuren metabolisieren und führen zu einem raschen Absinken des pH-Wertes, verbunden mit Demineralisation der Zahnhartgewebe bis hin zur Kavitation (Abb. 18) (Klinke et al. 2009, Marsh 2003, Becker 2002, Kleinberg 2002, Loesche 1986). Bereits Bradshaw et al. (1989) konnten durch Chemostat-Versuche zeigen, dass der niedrige pH-Wert – ausgelöst durch den Zuckermetabolismus der Mikroorganismen – für den Zusammenbruch der Homöostase in der Plaque verantwortlich ist.

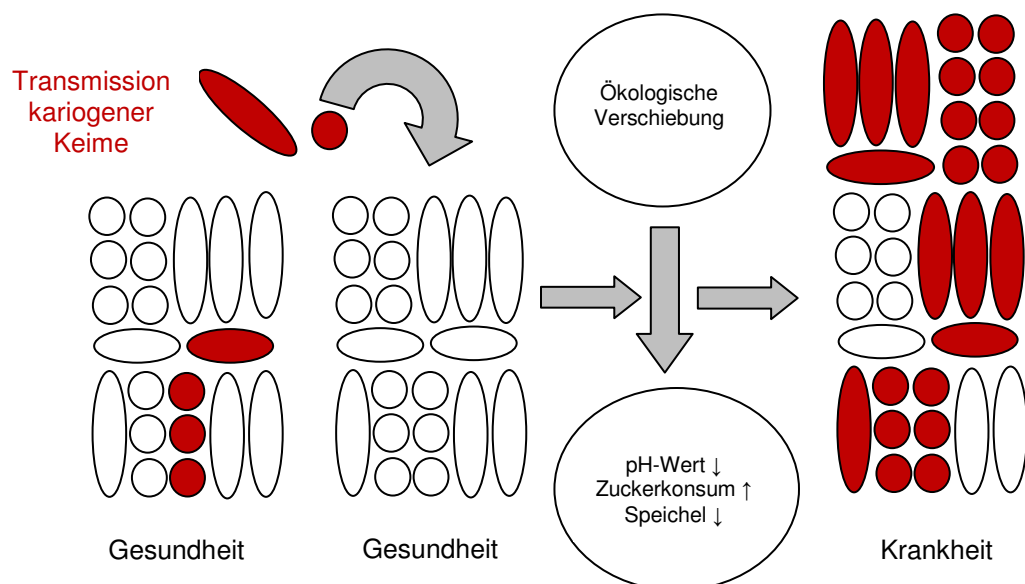


Abbildung 18: Schematische Darstellung der ökologischen Plaquehypothese, der Transmission kariogener Keime und der mikrobiellen Zusammensetzung der Plaque im gesunden und erkrankten Zustand der Zahnhartgewebe (nach Marsh 2009)

Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Hefen gehören zu jenen Keimgruppen, die die Eigenschaft besitzen, sehr schnell und sehr viel Säure aus Zucker zu metabolisieren und sich an einen sauren pH-Wert besonders gut anzupassen (Klinke et al. 2009, Marsh 2009, Kleinberg 2002, Loesche 1986). Mutans-Streptokokken sind von allen drei azidogenen Keimgruppen am besten an diese kariogenen Umgebungsbedingungen angepasst; ebenso können aber auch azidogene Laktobazillen und Hefen den Kariesprozess stark vorantreiben (Marsh 2006). Alle drei Keimgruppen sind darüber hinaus stark azidurisch und können sich im extrem sauren Milieu noch vermehren.

Studienergebnisse von Marchant et al. (2001), Ollila et al. (1997), Matee et al. (1992), Milnes und Bowden (1985), Berkowitz et al. (1984) und von van Houte et al. (1982) bestätigten die Bedeutung von *S. mutans*, Laktobazillen und Hefen bei der Entstehung und Progression der Milchzahnkaries. Alle Keimgruppen konnten signifikant häufiger aus kariösen Läsionen isoliert werden im Vergleich zu Plaqueproben von intakten Zahnflächen kariesfreier Kinder. Dies konnte in der rasterelektronenmikroskopischen Darstellung der vorliegenden Studie bestätigt werden. Die kariösen Kavitäten untersuchter Milchzähne beherbergten eine hohe Anzahl von Mikroorganismen im Vergleich zu nicht-kavitierten Zahnflächen.

Bei sinkendem pH-Wert in der Plaque bzw. kariösen Dentin können aber Stämme residenter Arten wie *S. oralis*, *S. mitis* oder *S. gordonii* azidurische Eigenschaften ausprägen und zur Säureproduktion bzw. Kariesauslösung und -progression beitragen (Beighton 2006). Dies erklärt heute, warum bei fehlendem Nachweis von Mutans-Streptokokken Karies vorliegen kann (Marsh 2009, Takahashi und Nyvad 2008, Marsh 2006, Beighton 2005).

Trotz dieser Veränderungen im mikrobiellen Ökosystem der Plaque bzw. des kariösen Dentins wird auch in der heute diskutierten erweiterten ökologischen Plaquehypothese den Mutans-Streptokokken und Laktobazillen eine zentrale Bedeutung eingeräumt (Marsh 2009, Takahashi und Nyvad 2008, Kleinberg 2002, Tanzer et al. 2001).

Mutans-Streptokokken kommen in kariösen Kavitäten in einer stark erhöhten Keimzahl vor, bilden jedoch nur einen Anteil von weniger als 1 % in der Plaqueflora von kariesfreien Kindern (Loesche et al. 1975). Matee et al. (1992) zeigte bei Kindern mit frühkindlicher Karies, dass die Keimzahlen der Mutans-Streptokokken in Kavitäten etwa 100-Mal höher waren als die Keimzahlen in der Plaque von kariesfreien Kindern. De Carvalho et al. (2006) und Marchant et al. (2001) bestätigten die hohe Besiedlungsrate von Milchzahnkavitäten bei Kindern mit frühkindlicher Karies durch

Mutans-Streptokokken. De Carvalho et al. (2006) wiesen bei 83,3 % untersuchter Kinder mit frühkindlicher Karies *S. mutans* aus kariösem Dentin nach und in 12,5 % der Fälle *S. sobrinus*; das Vorkommen beider Keime unterschied sich nicht signifikant im kariösen Dentin von Kindern mit einer Milchzahnkaries (nicht frühkindliche Karies). Bei kariesfreien Kindern lag der Nachweis von *S. mutans* in der Plaque bei 19 % und der von *S. sobrinus* bei 9,5 % der Kinder.

Bei den Kindern der vorliegenden Studie konnte aus dem kariösen Dentin von allen fünf Zähnen kulturell *S. mutans* angezüchtet werden und in einem Fall auch *S. sobrinus*. Der weltweit seltenere Nachweis von *S. sobrinus* in etwa 20 % der Fälle ist dadurch bedingt, dass *S. sobrinus* im Vergleich zu *S. mutans* keine intrazellulären Polysaccharide als Reservestoffe für Phasen der Nahrungskarenz bilden kann, dadurch nicht überlebt und weiterhin durch N-acetylglucosamin, Bestandteil der Speichelglycoproteine, gehemmt wird, aus Kohlenhydraten der Nahrung Säure zu produzieren (Rupf et al. 2006, Kneist et al. 2004b, Homer et al. 1993, de Soet et al. 1992, Lindquist und Emilson 1991a,b). Dennoch scheint *S. sobrinus* stärker virulent zu sein als *S. mutans* (Rupf et al. 2006, Kneist et al. 2004b). Lindquist und Emilson (1991a) konnten bei Patienten, die *S. sobrinus* in ihrer Zahnplaque beherbergten diesen Keim häufiger von bukkalen Zahnflächen isolieren und weniger häufig von okklusalen Zahnflächen. *S. mutans* und *S. sobrinus* kolonisierten bukkale Zahnflächen in einer ähnlichen hohen Keimzahl. Molaren waren von einer Besiedlung mit *S. sobrinus* häufiger betroffen als Prämolaren oder Frontzähne.

Andere Streptokokken wie *S. oralis*, *S. sanguinis* und *S. gordonii* wurden in höheren Keimzahlen von intaktem Schmelzflächen isoliert und bislang mit der Zahngesundheit assoziiert (Marchant et al. 2001). Heute diskutiert die erweiterte ökologischen Plaquehypothese das Vorkommen bzw. die Entwicklung virulenter Stämme auch bei Arten von *S. oralis*, *S. mitis* und *S. gordonii* (Marsh 2009, Takahashi und Nyvad 2008, Beighton 2005, Kleinberg 2002).

In der vorliegenden Studie wurden Mutans-Streptokokken kulturell und rasterelektronenmikroskopisch im kariösen Dentin aller Milchzähne aufgefunden. Die Keimzahlen lagen im Mittel bei einem log CFU-Wert von 4.4492 ± 0.5041 . Höhere Keimzahlen aus kariösem Dentin von Kindern mit frühkindlicher Karies ermittelten Matee et al. (1992) mit einem log CFU von 5.3 ± 1.4 ; auf klinisch intakten angrenzenden Schmelzflächen war eine Keimzahl mit einem log CFU von 5.1 ± 1.4 nachweisbar. Matee et al. (1992), van Houte et al. (1982)

und später auch Berkowitz et al. (2003) schlussfolgerten übereinstimmend, dass der Kavität benachbarte Zahnflächen bei kariesfördernden Trinkgewohnheiten ein großes Risiko besitzen, ebenfalls kariös zu werden. Berkowitz et al. (1984) konnten weiterführend kulturell bestätigen, dass jede Probe von kariösem Dentin von Kindern mit frühkindlicher Karies mit *S. mutans* besiedelt war. Babaahmady et al. (1998) konnte eine positive Beziehung zwischen dem Auftreten von *S. mutans* sowie *S. sobrinus* in der Plaque von Kindern und dem Vorkommen von initialkariösen Läsionen aufzeigen.

In der vorliegenden Studie waren die kariösen Zähne in der rasterelektronenmikroskopischen Darstellung mit Mutans-Streptokokken (93,9 %) besiedelt (Tab. 11, Abb. 15). Es ergaben sich keine Häufigkeitsunterschiede in der Besiedlung von Milchzähnen des Ober- und Unterkiefers bzw. zwischen Schneidezähnen und Molaren. Molekularbiologisch bestätigten auch Aas et al. (2008) in nahezu allen Dentinläsionen von Milchzähnen und bleibenden Zähnen bei Kindern *S. mutans*.

Orale Streptokokken sind zudem befähigt mit anderen Mikroorganismen zu koaggregieren und sogenannte „Maiskolben“ zu bilden (Kaufman und DiRienzo 1989). Listgarten (1976) beschrieb zuvor nach mikroskopischen Untersuchungen der Plaque von extrahierten Zähnen diese Strukturen häufiger auf der Oberfläche gereifter Plaque, die auch in der vorliegenden Untersuchung häufig zwischen Hefen und Mutans-Streptokokken bzw. zwischen Mutans-Streptokokken und Laktobazillen zu sehen waren (Abb. 19).

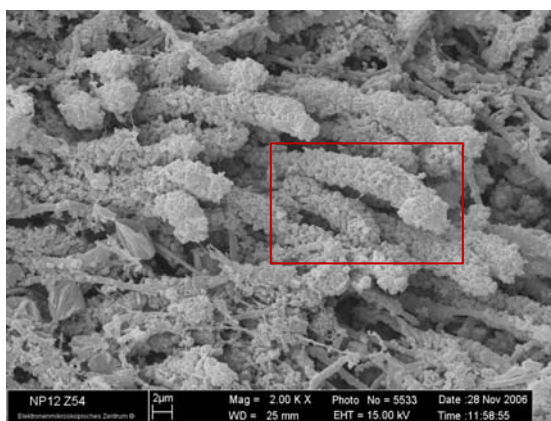
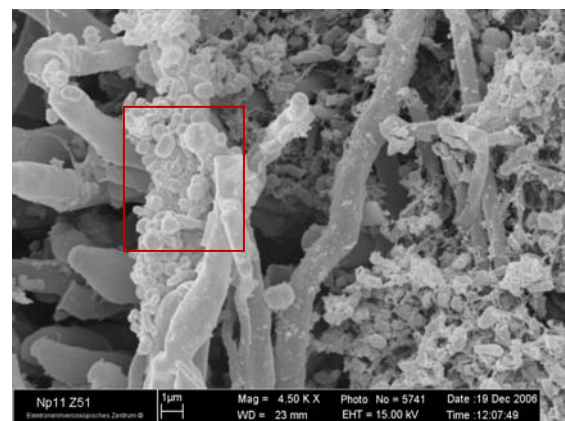
**A****B**

Abbildung 19: „Maiskolben“ A Mutans-Streptokokken haften an Laktobazillen; D Mutans-Streptokokken haften am Pseudomyzel der Hefen

Bagg und Silverwood (1986) konnten in vitro eine Koaggregation zwischen *S. mutans* und *C. albicans* nachweisen, die Jenkinson und Lala (1990) nicht bestätigten. Vorliegend wurde diese Koaggregation gehäuft im kariösen Dentin extrahierter Milchzähne beobachtet (Abb. 19).

Durch Koaggregation können Mutans-Streptokokken auf dem wachsenden Myzel von Hefen bzw. anderen filamentösen Mikroorganismen möglicherweise ihr Habitat leichter durch „Eigentransport“ erweitern bzw. ihre Übertragung auf andere Wirte fördern.

In-vitro-Versuche konnten für *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. anginosus*, *S. salivarius*, *S. pyogenes* die Koaggregationsfähigkeit mit *C. albicans* bestätigen (Holmes et al. 1995, Jenkinson und Lala 1990). McBride und van der Hoeven (1981) zeigten die Koaggregation von *S. mutans* und Veillonellen auf und Bradshaw et al. (1998) konnten die Koaggregation von *S. mutans* mit *A. naeslundii*, *F. nucleatum* und *L. rhamnosus* belegen.

Laktobazillen (Abb. 20) und Hefen sind im Vergleich zu Mutans-Streptokokken Schleimhautparasiten; Zahnglattflächen sind nicht ihr Habitat. Erstere Keimgruppen können deshalb nicht bzw. nur in geringem Umfang an Zahnglattflächen haften (van Houte et al. 1972, Hossain et al. 2003).

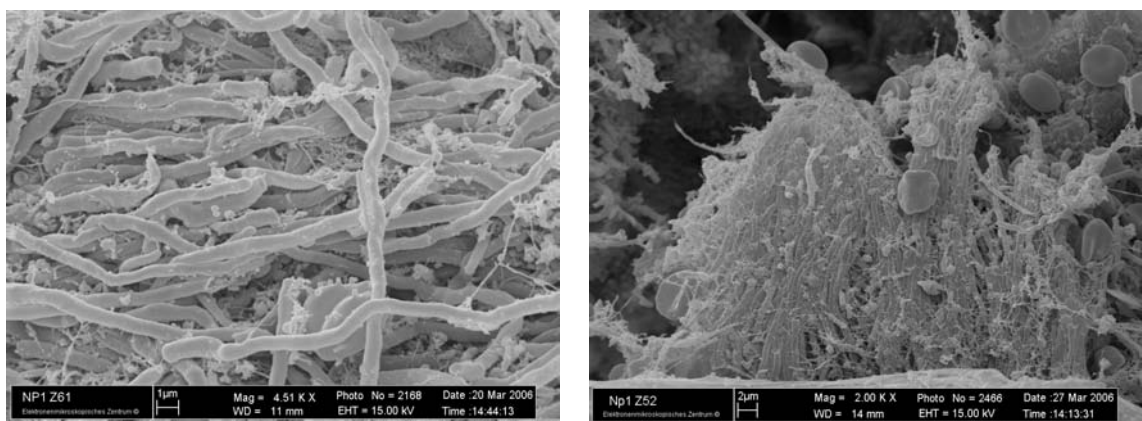


Abbildung 20: Palisadenförmig angeordnete Laktobazillen

Laktobazillen sind Folgekeime der Karies und besiedeln kariöse Läsionen nach Mutans-Streptokokken (Tanzer et al. 2001, Babaahmady et al. 1998, Holbrook et al. 1993, Loesche et al. 1984, van Houte et al. 1982, Crossner 1981, Carlsson et al. 1975). Dabei scheinen Laktobazillen exogene und opportunistische Pathogene darzustellen, die aus

der Nahrung und anderen Quellen außerhalb der Mundhöhle in Läsionen eine ökologische Nische finden (Parolo et al. 2009, Caufield et al. 2007).

Hefen finden ebenfalls in bereits fortgeschrittenen Kavitäten eine Nische (Wetzel und Sziegoleit 1998). Sie besitzen jedoch nach Wetzel et al. (1997) und Hossain et al. (2003) auch die Fähigkeit, Biofilme auf Zahnoberflächen zu bilden. Wetzel und Sziegoleit (1998) gingen sogar davon aus, dass *Candida*-Arten Kariesinitiale auslösen können. In der vorliegenden Studie konnten beide Keimgruppen mehrheitlich rasterelektronenmikroskopisch in den Dentinproben dargestellt werden.

Laktobazillen benötigen für die Besiedelung des Zahnes nach McGrady et al. (1995) die Bindung am Kollagen des Dentins, das erst nach der Demineralisation frei liegt. Im Gegensatz dazu kann *C. albicans* nicht nur am Kollagen, sondern auch am speichelbedeckten Hydroxylapatit adhäreren (Makihira et al. 2002, Cannon et al. 1995). Gleich Mutans-Streptokokken führen die starke Säureproduktion und Säuretoleranz der Laktobazillen und Hefen zu einer schnellen Progression der kariösen Läsionen (Klinke et al. 2009, Matee et al. 1992, Samaranayake et al. 1986, van Houte et al. 1982). Daher werden beide Keimgruppen häufig in hohen Keimzahlen aus fortgeschrittenen kariösen Läsionen isoliert; im Gegensatz zu Mutans-Streptokokken finden sie sich jedoch nicht oder nur in geringen Keimzahlen in angrenzenden intakten Schmelzbereichen und initialkariösen Läsionen (de Carvalho et al. 2006, Marchant et al. 2001, Matee et al. 1992, Milnes und Bowden 1985, Berkowitz et al. 1984, van Houte et al. 1982, Duchin und van Houte 1978). Vorliegend waren Laktobazillen in großer Anzahl in initialkariösen Läsionen zu finden (Abb. 21).

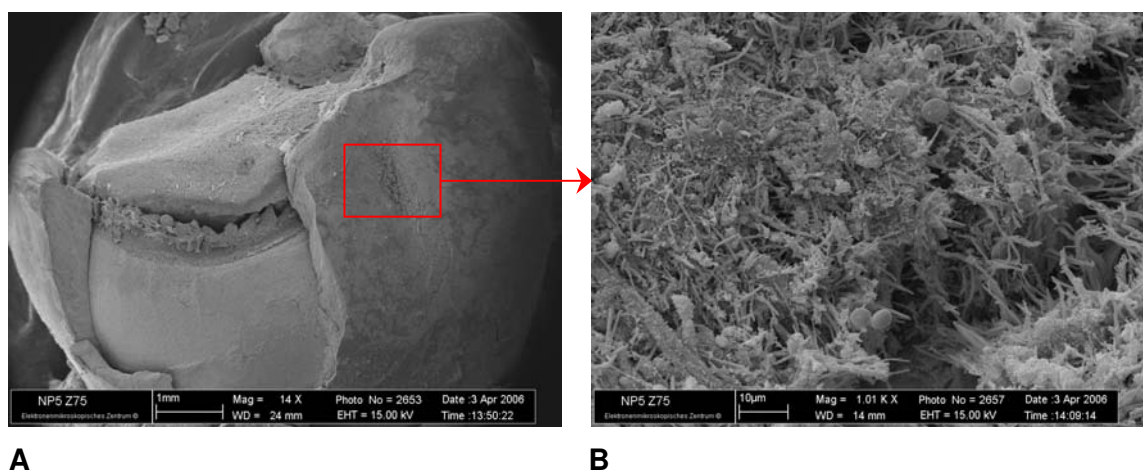


Abbildung 21: A und B Der Kavität benachbarte initialkariöse Läsion mit einer massiven Besiedlung mit Mutans-Streptokokken und Laktobazillen

Laktobazillen wurden bis in die 1960er Jahre mit der Entstehung der Karies in Verbindung gebracht (Alaluusua et al. 1989, Köhler und Bjarnason 1987, Edwardsson 1974, Owen 1949, Hemmens et al. 1946). Die Keimzahl der Laktobazillen im Speichel bzw. in der kariösen Kavität korreliert jedoch mit dem Karieserlebnis – insbesondere mit der behandlungsbedürftigen Kavität. Heinrich und Kneist (1987) konnten bei Erfurter Vorschulkindern mit profunden Kariesläsionen die Dominanz von Laktobazillen vor Mutans-Streptokokken aufzeigen. Das Vorkommen von *L. rhamnosus* am pulpanahen Kavitätenboden war mit pulpalen Entzündungen vergesellschaftet (Kneist et al. 2008).

Andere Autoren wiesen in kariösem Dentin von Kindern weniger häufig Laktobazillen, dafür aber häufiger Mutans-Streptokokken nach (Ayna et al. 2003, de Soet et al. 1995, Milnes und Bowden 1985).

Auch Marchant et al. (2001) isolierten aus dem kariösen Dentin von 52 Milchzähnen von Kindern mit frühkindlicher Karies in 74 % der Fälle Laktobazillen; im Gegensatz dazu war die Plaque kariesfreier Kinder frei von Laktobazillen. Beighton et al. (2004) hingegen konnten bereits bei 7 % kariesfreier Kinder aus benachteiligten Familien Laktobazillen in der Plaque nachweisen und bei 54 % der Kinder mit Karieserfahrung aus demselben familiären Umfeld.

In der vorliegenden Studie waren Laktobazillen nahezu in jedem rasterelektronenmikroskopisch untersuchten Zahn (97 %) zu finden und auch kulturell in den Dentinproben (Tab. 11, Abb. 15). Der durchschnittliche CFU-Wert lag für die Laktobazillen bei $\log 2.4295 \pm 1.6029$.

Matee et al. (1992) konnte aus kariösem Dentin von Milchschnidezähnen im Oberkiefer sogar eine 100-Fach höhere Keimzahl der Laktobazillen ermitteln (\log CFU 4.9 ± 1.1). In angrenzenden intakten Schmelzbereichen lag die Laktobazillenzahl bei einer CFU von $\log 2.1 \pm 1.3$. In Übereinstimmung zur vorliegenden Studie lagen keine Häufigkeitsunterschiede in der Besiedlungsrate der Milchzähne des Ober- und Unterkiefers bzw. der Milchschnidezähne und Milchmolaren vor (Abb. 15).

Auch die eingangs gestellte Arbeitshypothese, dass das Auftreten von Hefen im kariösen Dentin von Kindern häufig beobachtet werden kann, konnte bestätigt werden. Übereinstimmend zum Schrifttum konnten Hefen, kulturell *C. albicans* und *C. krusei*, in 16 (48,5 %) kariösen Dentinproben rasterelektronenmikroskopisch dargestellt werden

(Klinke et al. 2009, de Carvalho et al. 2006, Beighton et al. 2004, Marchant et al. 2001, Olilla et al. 1997, Beighton et al. 1996, Wetzell und Sziegoleit 1991) (Abb. 19, 22).

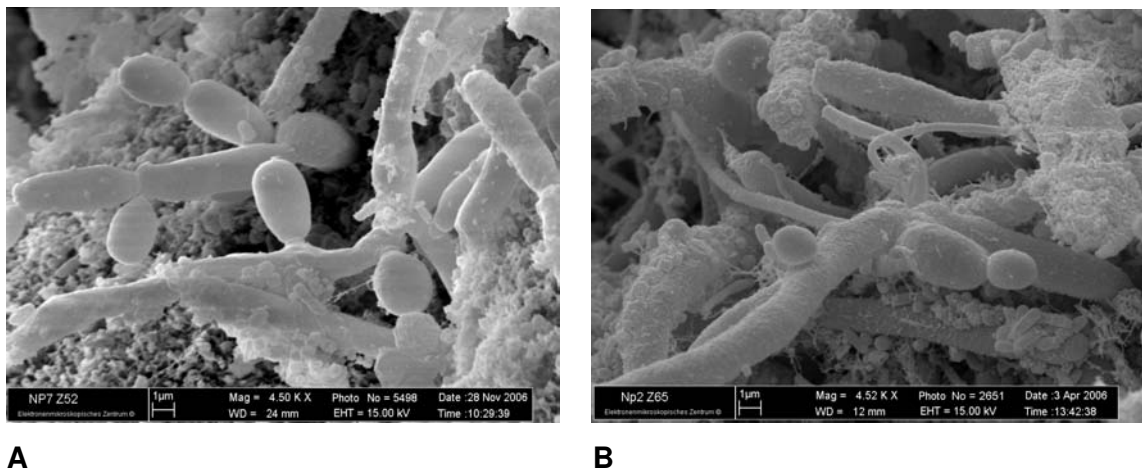


Abbildung 22: **A** Hefen mit Pseudomyzel und Blastosporen; **B** Hefen mit Pseudomyzel und Blastosporen zwischen Mutans-Streptokokken und Laktobazillen

Wetzell et al. (1993) sahen die Ursache der erhöhten *Candida*-Besiedlung der Mundhöhle von kleinen Kindern in einer über das erste Lebensjahr hinausgehende exzessive Trinkzufuhr kohlenhydratreicher Getränke aus Baby-Saugerflaschen.

Die mittlere Keimzahl der Hefen in den kariösen Dentinproben lag bei einer CFU in Höhe von $\log 2.1222 \pm 1.1901$ (Tab. 9). *C. albicans* dominierte unter den *Candida*-Arten; in lediglich einer Dentinprobe kam mit 40-prozentiger Prävalenz *C. krusei* vor (Tab. 9). Auch de Carvalho et al. (2006), Schulz-Weidner et al. (2005), Marchant et al. (2001), Wetzell und Sziegoleit (1991) konnten hauptsächlich *C. albicans* mit einer Häufigkeit zwischen 70,8 % und 96,8 % aus kariösem Dentin von Kindern mit frühkindlicher Karies nachweisen. So isolierten De Carvalho et al. (2006) aus dem Dentin von betroffenen Kindern in 70,8 % der Fälle *C. albicans* und aus der Plaque der gleichen Kinder in 50 % der Fälle. Nur 36,4 % der durch Karies (nicht frühkindliche Karies) betroffenen Kinder beherbergten *C. albicans* im kariösen Dentin. Marchant et al. (2001) bestätigten sogar in 89 % der Fälle das Vorkommen von *C. albicans*. Zu übereinstimmenden Ergebnissen kamen auch Radford et al. (2000). Andere *Candida*-Arten – wie vorliegend *C. krusei* – waren weit weniger häufig vertreten. De Carvalho et al. (2006) gaben eine Prävalenz von 8,3 % für *C. krusei* an und eine Prävalenz von 4,2 % für *C. tropicalis*; bei kariesfreien Kindern und Kindern mit Milchzahnkaries (nicht frühkindliche Karies) wurden beide Arten nicht nachgewiesen. Wetzell und Sziegoleit (1991) bestätigten das geringe Vorkommen von Hefen bei Kindern mit

naturgesunden Gebissen; nur in 4 % der Fälle konnten *Candida*-Arten durch letztere Autoren im Speichel nachgewiesen werden.

Klinke et al. (2009) diskutierte die starke Säureproduktion von *C. albicans* bei kariesaktiven Kindern als Grund für die schnelle Kariesprogression; durch vergleichende Berechnungen der Biomasse von *C. albicans* und Mutans-Streptokokken in der totalen kultivierbaren Mikroflora von Kindern mit frühkindlicher Karies wiesen die Autoren auf die Dominanz von *C. albicans* hin.

Auch bei Erwachsenen hatten zuvor Moalic et al. (2001) eine Korrelation zwischen *C. albicans* und der D-Komponente des DMFT beschrieben. Die Autoren hatten die Plaquezusammensetzung von 353 Studenten untersucht, den Kariesstatus (DMFT) erhoben und erklärten das hohe Vorkommen von *C. albicans* durch die Verringerung des pH-Wertes in der Plaque durch den hohen Zuckerkonsum der Studenten.

Das in der vorliegenden Studie nachgewiesenen hohe Vorkommen von *C. albicans* lässt auf den exzessiven Gebrauch der Babyflasche/Trinkflasche mit hohem Zuckerkonsum durch die Trinkflüssigkeit schließen, so dass dadurch insbesondere obere Schneidezähne in Übereinstimmung zu früheren Studien eine starke Zerstörung aufwiesen (Kneist und Borutta 2005, Chemnitius 2004, Milnes 1996, Wetzel 1988, Samaranayake et al. 1986, van Houte et al. 1982, Loesche et al. 1975).

So mussten bei den Kindern im vorliegenden Patientengut auch die Milchsneidezähne im Oberkiefer – gefolgt von den Milchmolaren im Ober- und Unterkiefer – wegen ihrer massiven kariösen Zerstörung extrahiert werden (Abb. 15). Die Milcheckzähne des Ober- bzw. Unterkiefers sowie die Milchsneidezähne des Unterkiefers konnten in jedem Fall erhalten werden. Die Schneidezähne des Unterkiefers – einschließlich der Milcheckzähne – waren offensichtlich durch ihre geschützte Position bei Aufnahme der Trinkflüssigkeit durch die Flasche weniger von der kariösen Zerstörung betroffen als andere Milchzähne. Milcheckzähne konnten zumindest durch konservierende Maßnahmen erhalten werden; sie übernehmen eine bedeutende Funktion bei der Entwicklung des Kiefers.

Im Konsens zu Klinke et al. (2009) wurde an den kariösen Milchzähnen auch ein differenziertes Besiedlungsmuster von *Candida albicans* aufgefunden. Nur das kariöse Dentin der Milchzähne des Oberkiefers war besiedelt; die Milchsneidezähne waren häufiger betroffen als die Molaren. Im kariösen Dentin der Milchzähne des Unterkiefers wurden rasterelektronenmikroskopisch keine Hefen detektiert (Tab. 12).

Die Milchschnidezähne brechen durchschnittlich zwischen dem 6. und 8. Lebensmonat als erste Zähne in die Mundhöhle durch (Schroeder 1992), sind damit am längsten den häufig kariogenen Getränken der Babyflasche ausgesetzt und frühzeitig kariös betroffen (Kneist et al. 2005, Borutta et al. 2002, Douglass et al. 2001). Da sich das mikrobielle Ökosystem mit der Progression der kariösen Läsion ändert (Marsh 2009, Aas et al. 2008), sind kariöse Milchschnidezähne im Oberkiefer zuerst mit Mutans-Streptokokken und in der Folge mit Laktobazillen und *C. albicans* besiedelt. Milchmolaren brechen erst später, im Durchschnitt zwischen dem 12. bis 30. Lebensmonat, durch (Schroeder 1992), haben eine kürzere Expositionszeit durch den Zucker (Kneist et al. 2005, van Houte et al. 1982), unterliegen später als die oberen Schnidezähne der kariösen Zerstörung und dürften dadurch zunächst weniger häufig durch Hefen besiedelt sein.

Ein weiterer Grund für den differenzierten Nachweis von Hefen im kariösen Dentin der extrahierten Milchzähne könnte das Material des Saugers der Babyflasche gewesen sein, an dessen Oberfläche Keime besonders gut adhären können (Comina et al. 2006, Ollila et al. 1997). Durch den Nuckel der Babyflasche wird darüber hinaus die Anzahl der retentiven Flächen erhöht. Bei Missbrauch der Babyflasche führt dies zur vermehrten mikrobiellen Adhäsion an Nuckel und Zahnglattflächen und damit zur Erhöhung des Kariesrisikos (Comina et al. 2006, Ollila et al. 1998, Ollila et al. 1997). Immerhin registrierten Derkson und Ponti (1982) dazu, dass Kinder mit frühkindlicher Karies etwa 8 Stunden täglich an der Flasche nuckeln und gleichaltrige kariesfreie Kinder am Tag etwa 2 Stunden aus der Flasche trinken. Comina et al. (2006) bestätigten eine hohe Besiedlungsrate von benutzten Nuckeln mit *C. albicans*. Auch Mattos-Graner et al. (2001) fanden eine Beziehung zwischen der Verwendung von Nuckeln und der Proliferation von Hefen in der Mundhöhle. Somit sind Milchzähne, die einen häufigen und langen Kontakt zum Babysauger bzw. Nuckel haben, deutlich mehr gefährdet, durch Hefen besiedelt zu werden.

Einen weiteren Faktor für das erhöhte Risiko der Hefebesiedlung der Mundhöhle von Kindern im Allgemeinen stellt das noch nicht vollständig gereifte Immunsystem dar. Bereits Jacob et al. (1998) konnten bei HIV-positiven Patienten im Vergleich zu HIV-negativen Patienten eine erhöhte Besiedlungsrate von *C. albicans* im kariösen Dentin aufzeigen. Auch aus einer Studie aus den 1970er Jahren ging hervor, dass Candida-Arten im Gegensatz zu *S. mutans* und Laktobazillen signifikant häufiger in der supragingivalen Plaque immungeschwächter Patienten vorkommen als bei

immunkompetenten Patienten (Brown et al. 1979). Die Besiedlung der Mundhöhle mit Candida-Arten und Laktobazillen scheint zudem mit steigendem Alter der Kinder nach Ollila et al. (1997) und Wetzel und Sziegoleit (1991) abzunehmen. So konnte auch von Ollila et al. (1997) gezeigt werden, dass die Höhe der Keimzahlen von Laktobazillen und Hefen mit dem Alter negativ korreliert sind. Letzter Autoren wiesen im Speichel von Kindern aus Finnland, die jünger als zwei Jahre alt waren, in 25 % der Fälle Laktobazillen und in 33 % der Fälle Hefen (Candida) nach und bei Kindern im Alter zwischen zwei und vier Jahren einen geringeren Anteil (15 % Laktobazillen und 19 % Candida).

Besonders bei einer reduzierten Abwehrlage oder einem noch nicht vollständig gereiftem Immunsystem können orale Keime ein allgemeines Gesundheitsrisiko darstellen (Schulz-Weidner et al. 2005, Ramoz-Gomez 2000, Jacob et al. 1998, Wetzel 1982). Über die kariösen Läsionen können beispielsweise Hefen die Mundhöhle und den Magen passieren, in den Darm gelangen, sich im Organismus verbreiten und bei entsprechender Disposition (Allgemeinerkrankung, Immunsuppression) zu weiteren gesundheitlichen Komplikationen führen (Schulz-Weidner 2005, Hossain et al. 2003). Die allgemein reduzierte Abwehrlage kann zu Gesichtsschwellungen, Fieber, akuten Abszessen, Harn- und Atemwegsinfekten, Soor, Mittelohrentzündungen und zur Reduzierung des Allgemeinbefindens führen (Wetzel et al. 1993, Wetzel und Sziegoleit 1991).

Hossain et al. (2003) isolierten Hefen der Gattung Candida aus 85,7 % kariöser Läsionen und 59 % der Fäzesproben von kariesaktiven Vorschulkindern. Gesunde Patienten beherbergten in nur 7,7 % Candida-Arten in ihrer Plaque und nur in 2 % in den Fäzes (Hossain et al. 2003). Schulz-Weidner et al. (2005) konnten in 53,3 % der Fälle eine genetische Stammverwandtschaft von Candida-Arten aus kariösem Dentin und Stuhl nachweisen.

Einer ausbleibenden Sanierung kariöser Kavitäten und ein Fortschreiten der kariösen Zahnzerstörung folgen häufig das Absterben der Pulpa und eine weitere Keimverbreitung über den Apex hinaus in den Knochen (Milnes 1996, Wetzel 1982). Orale Pathogene können sich nach Marsh (2006) auch während einer vorübergehenden Bakteriämie (z.B. bei Zahnextraktionen) im Organismus verteilen und somit zu systemischen Erkrankungen beitragen

Daher sollte aus allgemeinmedizinischer und zahnärztlicher Sicht insbesondere bei immungeschwächten Patienten der Sanierung kariöser Kavitäten eine besondere Bedeutung zukommen (Schulz-Weidner et al. 2005, Jacob et al. 1998, Wetzel et al. 1993, Wetzel und Sziegoleit 1991, Wetzel et al. 1985).

Nach Sanierung kariöser Läsionen konnten Steinle et al. (1967) eine deutliche Verringerung der Laktobazillenzahlen um 94,2% aufzeigen. In zwei weiteren Studien konnten bei Kindern nach der Zahnsanierung eine deutliche Reduktion der Mutans-Streptokokken in der Plaque (van Lunsen et al. 2000) und im Speichel (Petti et al. 1997) nachgewiesen werden. Kneist et al. (1998) konnten ebenfalls bestätigen, dass Erfurter Schulkinder mit sanierten Gebissen signifikant weniger Mutans-Streptokokken und Laktobazillen im Speichel beherbergten als Gleichaltrige mit unversorgten Kavitäten. Starr et al. (2002) zeigten ähnliche Ergebnisse für *C. albicans* auf. Bereits Kneist et al. (1985) zeigten, dass die Hefenbesiedlung der Kavität nach restloser Entfernung des erweichten Dentins pulpawärts abnahm, wiesen jedoch auch auf eine mikrobielle Restbesiedlung des harten Dentins hin.

Chase et al. (2004) und Peretz et al. (2003) schlussfolgerten aus ihren Untersuchungen, dass Kinder mit frühkindlicher Karies Kariesrisikokinder bleiben. Die Autoren konnten nach Sanierung von Kindern mit frühkindlicher Karies zunächst eine Senkung der Mutans-Streptokokken nachweisen, die jedoch im zeitlichen Abstand zur Behandlung wieder anstiegen. Auch Graves et al. (2004) konnten bei 21 (37 %) von 57 Kindern, die im Alter von 2,3 bis 7,3 Jahren unter allgemeiner Anästhesie saniert worden waren, 6 Monate nach der Behandlung erneut Initialkaries diagnostizieren.

Die Kinder der vorliegenden Studie wurden unter Intubationsnarkose behandelt. Über den Erfolg der Behandlung unter Allgemeinanästhesie und die nachfolgenden Erhaltung der Gebissgesundheit liegen unterschiedliche Meinungen vor. Acs et al. (2001) berichteten über den Erfolg der Behandlung bei 400 Kindern und die Zufriedenheit der Eltern. Die Lebensqualität der Kinder – gemessen an der Schmerzausschaltung, verbessertem Essen und Schlafen – war gestiegen. Bei 36 Monate alten Kindern mit frühkindlicher Karies konnten Filstrup et al. (2003) vier Wochen nach der kurativen Behandlung auch einen Anstieg der Lebensqualität der Kinder durch die Befragung der Kinder selbst und ihrer Eltern festhalten.

Primosch et al. (2001) suchten im Ergebnis ihrer retrospektiven Studie nach einer Strategie, die Compliance der Eltern nach der kostenaufwendigen Behandlung ihrer

Kinder zu optimieren, um den Kostenaufwand der Behandlung der „vernachlässigten“ Kinder zu „rechtfertigen“ und Lebensqualität zu erhalten.

Letztlich sollten Mütter durch Optimierung ihrer Mundhygiene Kinder vor einer frühen Übertragung kariogener Keime (Mutans-Streptokokken) schützen. Durch Kontrolle der Zahn- und Mundhygiene ihrer Kinder und Nachputzen mindestens bis zum Schulalter, durch zahngesunde Ernährung und regelmäßige Vorstellung des Kindes beim Zahnarzt werden Mütter ihrer Verantwortung zur Gesunderhaltung des Milchgebisses gerecht. Dies zu vermitteln, bleibt eine wichtige Aufgabe des Zahnarztes; dies kann durch die vorliegende Studie nur bekräftigt werden.

7 Schlussfolgerung

Nach Übertragung kariogener Mutans-Streptokokken und häufiger Aufnahme zuckerhaltiger Getränke aus der Babyflasche bzw. bei älteren Kindern auch als Zwischenmahlzeiten in Form von festen kariogenen Nahrungsmitteln (Bonbons, Schokolade, Kuchen, Keks) kommt es zur Entwicklung einer frühkindlichen Karies mit nachfolgender Etablierung von Laktobazillen und Hefen.

Durch das Nuckeln an der Babyflasche werden die oberen Schneidezähne ständig von süßen Getränken umspült, wobei der Speichel aus den kleinen Speicheldrüsen in der Umgebung dieser Zähne nur über geringe remineralisierende Eigenschaften verfügt, während die unteren Schneidezähne bei diesem Trinkverhalten weitestgehend vom kariogenen Substrat geschützt bleiben. Folglich wird das kariöse Dentin der Oberkieferzähne zuerst zum Habitat der Hefen und Laktobazillen.

Unsanierete Zähne beim Kleinkind, dessen Immunsystem sich darüber hinaus noch in der Entwicklung befindet, stellen bei massiver mikrobieller Besiedlung ein allgemeines Gesundheitsrisiko dar und bilden die Grundlage für die Erkrankung noch intakter Zähne. Kariöse Milchzähne müssen deshalb saniert werden, um die Mundgesundheit, allgemeine Gesundheit und Lebensqualität von Kleinkindern und Vorschulkindern zu gewährleisten.

Neben der Aufklärung der Mütter ist eine enge Kooperation zwischen Kinderarzt und Zahnarzt anzustreben, um gefährdete Kinder bereits frühzeitig zu betreuen, gegebenenfalls zu behandeln und schwere Verläufe bis hin zur Notwendigkeit einer Sanierung unter Intubationsnarkose zu verhindern.

Der entstandene Bildband zur Besiedlung kariöser Milchzähne bietet sich als Anschauungsmaterial in der Ausbildung von Zahnmedizinstudenten in Vorlesungen und Seminaren an sowie für Fortbildungen von Zahnärzten und Kinderärzten, um die Sensibilität für das Krankheitsbild zu erhöhen. Zudem kann die bildliche Darstellung der starken Keimbesiedlung der kariösen Milchzähne als Anschauungsmaterial für Eltern eingesetzt werden, um die Notwendigkeit einer zahnärztlichen Behandlung betroffener Kinder zu unterstreichen.

8 Literaturverzeichnis

1. Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, Lee AM, Olsen I, Dewhirst FE, Leys EJ, Paster BJ (2008): Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *J Clin Microbiol* 46(4):1407-1417.
2. Acs G, Pretzer S, Foley M, Ng MW (2001): Perceived outcomes and parental satisfaction following dental rehabilitation under general anesthesia. *Pediatr Dent* 23(5):419-423.
3. Adair PM, Pine CM, Burnside G, Nicoll AD, Gillet A, Anwar S, Broukal Z, Chestnutt IG, Declerck D, Ping FX, Ferro R, Freeman R, Grant-Mills D, Gugushe T, Hunsrisakhun J, Irigoyen-Camacho M, Lo ECM, Moola MH, Naidoo S, Nyandindi U, Poulsen VJ, Ramos-Gomez F, Razanamihaja N, Shahid S, Skeie MS, Skur OP, Splieth C, Soo TC, Whelton H, Young DW (2004): Familial and cultural perceptions and beliefs of oral hygiene and dietary practices among ethnically and socio-economically diverse groups. *Community Dent Health* 21 (Suppl 1):102-111.
4. Alaluusua S, Mättö J, Grönroos L, Innilä S, Torkko H, Asikainen S, Jousimies-Somer H, Saarela M (1996): Oral colonization by more than one clonal type of *Mutans streptococcus* in children with nursing-bottle dental caries. *Arch Oral Biol* 41(2):167-173.
5. Alaluusua S, Nystrom M, Gronroos L, Peck L (1989): Caries-related microbiological findings in a group of teenagers and their parents. *Caries Res* 23(1):49-55.
6. Alvarez JO, Caceda J, Woolley TW, Carley KW, Baiocchi N, Caravedo L, Navia JM (1993): A longitudinal study of dental caries in the primary teeth of children who suffered from infant malnutrition. *J Dent Res* 72(12):1573-1576.
7. Ayna B, Celenk S, Atakul F, Sezgin B, Ozekinci T (2003): Evaluation of clinical and microbiological features of deep carious lesions in primary molars. *J Dent Child* 70(1):15-18.
8. Baake K. 2003. Zur Säureproduktion und Säuretoleranz ausgewählter oraler Laktobazillen [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
9. Babaahmady KG, Challacombe SJ, Marsh PD, Newman HN (1998): Ecological study of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Lactobacillus* spp. at sub-sites from approximal dental plaque from children. *Caries Res* 32(1):51-58.
10. Bagg J, Silverwood RW (1986): Coagglutination reactions between *Candida albicans* and oral bacteria. *J Med Microbiol* 22:165-169.

11. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, Griffen AL (2002). Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol* 40(3):1001-1009.
12. Beighton D (2005): The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. *Community Dent Oral Epidemiol* 33:248-255.
13. Beighton D, Adamson A, Rugg-Gunn A (1996): Associations between dietary intake, dental caries experience and salivary bacterial levels in 12-year-old english schoolchildren. *Arch Oral Biol* 41(3):271-280.
14. Beighton D, Brailsford S, Samaranayake LP, Brown JP, Ping FX, Grant-Mills D, Harris R, Lo EC, Naidoo S, Ramos-Gomez F, Soo TC, Burnside G, Pine CM (2004): A multi-country comparison of caries-associated microflora in demographically diverse children. *Community Dent Health* 21(1 Suppl):96-101.
15. Beltrami G (1952): Les dents noires de tout-petits. *Siecle Medical* In: Beltrami G: *La Melanodontie infantile*. Marseille: Leconte.
16. Bergholz T (2002): Säureproduktion und Säuretoleranz bei humanen Stämmen von *Streptococcus mutans* [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
17. Berkowitz RJ (2003): Causes, treatment and prevention of early childhood caries: A microbiologic Perspective. *J Can Dent Assoc* 69(5):304-307.
18. Berkowitz RJ, Turner J, Hughes C (1984): Microbial characteristics of the human dental caries associated with prolonged bottle-feeding. *Arch Oral Biol* 29(11):949-951.
19. Bernhardt H (2004): *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Propionibacterium* In: Sanderink RBA, Bernhardt H, Knoke M, Meyer J, Weber C, Weiger R, Kramer A (2004): *Curriculum orale Mikrobiologie und Immunologie*. Erste Auflage. Berlin: Quintessenz, 229-232.
20. Borutta A, Kneist S (2007): Mundgesundheit von Vorschulkindern. *ZWP* 5:54-59.
21. Borutta A, Kneist S, Kischka P, Eherler D, Chemnitz P, Stösser L (2002): Die Mundgesundheit von Kleinkindern in Beziehung zu relevanten Einflussfaktoren. *DZZ* 57(12):682-687.
22. Bowen WH (1998): Response to Seow: biological mechanisms of early childhood caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 26(1 Suppl):28-31.

-
23. Bradshaw DJ, Marsh PD, Watson GK, Allison C (1998): Role of *Fusobacterium nucleatum* and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration. *Infect Immun* 66(10):4729-4732.
 24. Bradshaw DJ, McKee AS, Marsh PD (1989): Effects of carbohydrate pulses and pH on population shifts within oral microbial communities in vitro. *J Dent Res* 68(9):1298-1302.
 25. Broderick E, Marby J, Robertson D, Thompson J (1989): Baby bottle tooth decay in native American children in head start centers. *Caries Res* 40:366-374.
 26. Brown LR, Mackler BF, Levy BM, Wright TE, Handler SF, Moylan JS, Perkins DH, Keene HJ (1979): Comparison of the plaque microflora in immunodeficient and immunocompetent dental patients. *J Dent Res* 58(12):2344-2352.
 27. Cannon RD, Holmes AR, Mason AB, Monk BC (1995): Oral candida: clearance, colonization, or candidiasis? *J Dent Res* 74(5):1152-1161.
 28. Carlsson J, Grahnén H, Jonsson G (1975): Lactobacilli and streptococci in the mouth of children. *Caries Res* 9:333-339.
 29. Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP (1993): Initial acquisition of mutans streptococci by infants: Evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res* 72(1):37-45.
 30. Caufield PW, Li Y, Dasanayake A (2005): Dental caries: an infectious and transmissible disease. *Compend Contin Educ Dent* 26(5 Suppl 1):10-16.
 31. Caufield PW, Li Y, Dasanayake A, Saxena D (2007): Diversity of lactobacilli in the oral cavities of young women with dental caries. *Caries Res* 41(1):2-8.
 32. Chase I, Berkowitz RJ, Mundorff-Shrestha SA, Proskin HM, Weinstein P, Billings R (2004): Clinical outcomes for early childhood caries (ECC): the influence of salivary mutans streptococci levels. *Eur J Paediatr Dent* 5:143-146.
 33. Chemnitius, P (2004): Die Mundgesundheit von Klein- und Vorschulkindern in Beziehung zu relevanten Einflussfaktoren [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
 34. Comina E, Marion K, Renaud FNR, Dore J, Bergeron E, Freney J (2006): Pacifiers: A microbial reservoir. *Nursing and Health Sciences* 8:216-223.
 35. Crossner CG (1981): Salivary lactobacillus counts in the prediction of caries activity. *Dent Oral Epidemiol* 9:182-190.

-
36. Dasanayake AP, Roseman JM, Caufield PW, Butts JT (1995). Distribution and determinants of mutans streptococci among African-American children and association with selected variables. *Pediatr Dent* 17(3):192-198.
 37. Davies GN (1998): Early childhood caries - a synopsis. *Community Dent Oral Epidemiol* 26(1 Suppl):106-116.
 38. de Carvalho FG, Silva DS, Hebling J, Spolidorio LC, Spolidorio DM (2006): Presence of mutans streptococci and *Candida* spp. in dental plaque/dentine of carious teeth and early childhood caries. *Arch Oral Biol* 51(11):1024-1028.
 39. de Moura Sieber V, de Moura R, Kneist S, Borutta A: Caries experience in deprived Brazilian toddlers in relation to breast-feeding and oral hygienic habits. 54th annual congress of the european organization for caries research (ORCA), Helsingor, Denmark. *Caries Res.* 41/4 (2007) (Abstract 95).
 40. de Soet JJ, Holbrook WP, van Amerongen WE, Schipper E, Homburg CH, de Graaff J (1990): Prevalence of *Streptococcus sobrinus* in relation to dental caries in children from Iceland and The Netherlands. *ASDC J Dent Child* 57(5):337-342.
 41. de Soet JJ, van Steenberghe T, de Graaff J (1992): *Streptococcus sobrinus*: taxonomy, virulence and pathogenicity. *Alpe Adria Microbiol* 3:127-145.
 42. de Soet JJ, Weerheijm KL, van Amerongen WE, de Graaff J (1995): A comparison of the microbial flora in carious dentine of clinically detectable and undetectable occlusal lesions. *Caries Res* 29(1):46-49.
 43. Derkson GD, Ponti P (1982): Nursing bottle syndrom: Prevalence and aetiology in a non-fluoridated city. *J Canad Dent Assoc* 6:389-393.
 44. Douglass JM, Tinanoff N, Tang JM, Altman DS (2001): Dental caries patterns and oral health behaviors in Arizona infants and toddlers. *Community Dent Oral Epidemiol* 29(1):14-22.
 45. Drury TF, Horowitz AM, Ismail AI, Maertens MP, Rozier RG, Selwitz RH (1999): Diagnosing and reporting early childhood caries for research purposes. A report of a workshop sponsored by the National Institute of Dental and Craniofacial Research, the Health Resources and Services Administration, and the Health Care Financing Administration. *J Public Health Dent* 59(3):192-197.
 46. Duchin S, van Houte J (1978): Relationship of *Streptococcus mutans* and lactobacilli to incipient smooth surface dental caries in man. *Arch Oral Biol* 23:779-786.

-
47. Dye BA, Shenkin JD, Ogden CL, Marshall TA, Levy SM, Kanellis MJ (2004): The relationship between healthful eating practices and dental caries in children aged 2-5 years in the United States, 1988-1994. *J Am Dent Assoc* 135(1):55-66.
 48. Edwardsson S (1974): Bacteriological studies on deep areas of carious dentine. *Odontol Revy Suppl* 32:1-143.
 49. Eggert FM, Gurner BW (1984): Reaction of human colostral and early milk antibodies with oral streptococci. *Infect Immun* 44(3):660-664.
 50. Eronat N, Eden E (1992): A comparative study of some influencing factors of rampant or nursing caries in preschool children. *J Clin Pediatr Dent* 16(4):275-279.
 51. Fass, E (1962): Is bottle feeding of milk a factor in dental caries? *J Dent Child* 29:245-251.
 52. Febres C, Echeverri EA, Keene HJ (1997): Parental awareness, habits, and social factors and their relationship to baby bottle tooth decay. *Pediatr Dent* 19(1):22-27.
 53. Filstrup SL, Briskie D, da Fonseca M, Lawrence L, Wandera A, Inglehart MR (2003): Early childhood caries and quality of life: child and parent perspectives. *Pediatr Dent* 25(5):431-440.
 54. Freedman M, Birked D, Granath K (1978): Analyses of glucans from cariogenic and mutant *Streptococcus mutans*. *Infect Immun* 21(1):17-27.
 55. Fujiwara T, Sasada E, Mima N, Ooshima T (1991): Caries prevalence and salivary mutans streptococci in 0-2-year-old children of Japan. *Community Dent Oral Epidemiol* 19(3):151-154.
 56. Graves CE, Berkowitz RJ, Proskin HM, Chase I, Weinstein P, Billings R (2004): Clinical outcomes for early childhood caries: influence of aggressive dental surgery. *J Dent Child* 71:114-117.
 57. Grimmer (2009): Charakterisierung des oralen Gesundheitszustandes von Kleinkindern mit frühkindlicher Karies im Patientengut der Poliklinik für Präventive Zahnheilkunde Jena in den Jahren 2000 bis 2006 [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
 58. Grindefjord M, Dahllöf G, Ekström G, Höjer B, Modéer T (1993): Caries prevalence in 2.5-year-old children. *Caries Res* 27(6):505-510.
 59. Gripp VC, Schlagenhauf U (2002): Prevention of early mutans streptococci transmission in infants by professional tooth cleaning and chlorhexidine varnish treatment of the mother. *Caries Res* 36(5):366-372.

-
60. Günay H, Meyer K, Rahman A (2007): Gesundheitsförderung in der Schwangerschaft. *ZM* 97(17):44-54.
 61. Gustafsson BE, Quensel CE, Lanke LS, Lundqvist C, Grahnen H, Bonow BE, Krasse B (1954): The Vipeholm dental caries study; the effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years. *Acta Odontol Scand* 11(3-4):232-264.
 62. Hallonsten AL, Wendt LK, Mejäre I, Birkhed D, Håkansson C, Lindvall AM, Edwardsson S, Koch G (1995): Dental caries and prolonged breast-feeding in 18-month-old Swedish children. *Int J Paediatr Dent* 5:149-155.
 63. Hamada S, Slade HD (1980): Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev* 44(2):331-384.
 64. Hanaki M, Nakagaki H, Nakamura H, Kondo K, Weatherell JA, Robinson C (1993): Glucose clearance from different surfaces of human central incisors and first molars. *Arch Oral Biol* 38(6):479-482.
 65. Harris R, Nicoll AD, Adair PM, Pine CM (2004): Risk factors for dental caries in young children: a systematic review of the literature. *Community Dent Health* 21:71-85.
 66. Heinrich R, Kneist S (1987): Die Vitalerhaltung des Milchzahnendodonts – Eine klinisch-mikrobiologische Studie. Diss B Erfurt.
 67. Hemmens ES, Blayney JR, Bradel SF, Harrison RW (1946): The microbiologic flora of the dental plaque in relation to the beginning of caries. *J Dent Res* 25:195-205.
 68. Hirose H, Hirose K, Isogai E, Miura H, Ueda I (1993): Close association between *Streptococcus sobrinus* in the saliva of young children and smooth-surface caries increment *Caries Res* 27(4):292-297.
 69. Holbrook WP, de Soet JJ, de Graaff J (1993): Prediction of dental caries in preschool children *Caries Res* 27(5):424-430.
 70. Holmes AR, Gopal PK, Jenkinson HF (1995): Adherence of *Candida albicans* to a cell surface polysaccharide receptor on *Streptococcus gordonii*. *Infect Immun* 63(5):1827-1834.
 71. Homer KA, Patel R, Beighton D (1993): Effects of N-acetylglucosamine on carbohydrate fermentation by *Streptococcus mutans* NCTC 10449 and *Streptococcus sobrinus* SL-1. *Infect Immun* 61(1): 295-302.
 72. Horowitz HS (1998): Research issues in early childhood caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 26(1 Suppl):67-81.

-
73. Hossain H, Ansari F, Schulz-Weidner N, Wetzel WE, Chakraborty T, Domann E (2003): Clonal identity of *Candida albicans* in the oral cavity and the gastrointestinal tract of pre-school children. *Oral Microbiol Immunol* 18(5):302-308.
 74. Ismail AI, Sohn W (1999): A systematic review of clinical diagnostic criteria of early childhood caries. *J Public Health Dent* 59(3):171-191.
 75. Jacob LS, Flaitz CM, Nichols CM, Hicks MJ (1998): Role of dentinal carious lesions in the pathogenesis of oral candidiasis in HIV infection. *J Am Dent Assoc* 129(2):187-194.
 76. Jacobi A (1862): The dentition and its derangements. Course of lectures delivered in New York medical College, New York.
 77. Jenkinson HF, Lala HC, Shepherd MG (1990): Coaggregation of *Streptococcus sanguis* and other streptococci with *Candida albicans*. *Infect Immun* 58(5):1429-1436.
 78. Kandler O, Weiss N (1986): Regular, nonsporing gram-positive rods. In: Sneath PHA, Mair N, Sharpe ME, Holt JG (Hrsg.): *Bergeys manual of systematic bacteriology*. 8. Aufl., Vol. 2. Baltimore: Williams and Wilkins, 1208-1234.
 79. Karn TA, O'Sullivan DM, Tinanoff N (1998): Colonization of mutans streptococci in 8- to 15-month-old Children. *J Public Health Dent* 58(3):248-249.
 80. Kaste LM, Gift HC (1995): Inappropriate infant bottle feeding. Status of the healthy people 2000 objective. *Arch Pediatr Adolesc Med* 149:786-791.
 81. Kaufman J, DiRienzo JM (1989): Isolation of a corn cob (coaggregation) receptor polypeptide from *Fusobacterium nucleatum*. *Infect Immun* 57(2):331-337.
 82. Kleinberg I (2002): A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative and the specific-plaque hypothesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 13(2):108-125.
 83. Klinke T, Kneist S, de Soet JJ, Kuhlisch E, Mauersberger S, Forster A, Klimm W (2009): Acid production by oral strains of *Candida albicans* and lactobacilli. *Caries Res* 43(2):83-91.
 84. Kneist S, Borutta A (2005): Zum Ursachenkomplex der frühkindlichen Karies und ihrer Vermeidung. *ZWR* 114. Jahrg 6:286-292.
 85. Kneist S, Borutta A, Merte A (2004a): Zur Infektionsquelle der Karies. *Quintessenz* 55(3):237-246.

-
86. Kneist S, Chemnitius P (2006): Die mikrobielle Mundhöhlenbesiedlung von Müttern in Beziehung zur frühkindlichen Karies. *Quintessenz* 57(6):607-615.
 87. Kneist S, Heinrich R, Künzel W (1985): Zum Vorkommen von Hefen in der tiefen kariösen Kavitation. *Mykosen* 23:515-519.
 88. Kneist S, Heinrich-Weltzien R, Rupf S, Merte K, Eschrich K (2004b): Zur Bedeutung von *S. sobrinus* für die Kariesentwicklung bei Kindern. *Oralprophylaxe und Kinderzahnheilkunde* 1 26:24-28.
 89. Kneist S, Heinrich-Weltzien R, Tietze W, Fischer T, Stöber L (1998): Zur Kariesvorsorgeuntersuchung mit mikrobiologischen Speicheltests - Sensitivität, Spezifität und Indikation. In: Stöber, L (Hrsg): *Kariesdynamik und Kariesrisiko*. Berlin, Chicago, London [u.a.]: Quintessenz-Verlag, 230-238.
 90. Kneist S, Fiege T, Küpper H, Callaway A, Willershausen B, Schmidt F, Thiede B (2008): Diversity of lactobacilli in deep carious lesions of deciduous molars. *Caries Res* 42(3):185-238.
 91. Kneist S, Scharff S, de Soet JJ, van Loveren C, Stöber L (2000): Bacteriocin-production by human strains of Mutans and oral streptococci. *Caries Res* 34:308 Abst 1.
 92. Koch H (1977): *Leitfaden der Medizinischen Mykologie*. Erste Aufl. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag.
 93. Koch MJ, Gängler P (2005): Anomalien der Zahnhartsubstanzen In: Gängler P, Hoffmann Th, Willershausen N, Schwenzer N, Ehrenfeld M (2005): *Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie*. Zweite Auflage. Stuttgart: Thieme Verlag, 70-75.
 94. Koçkapan C, Wetzel WE (1983): Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen der mikrobiellen Plaque bei tiefer zerstörten Milchfrontzähnen. *DZZ* 38:903-905.
 95. Köhler B, Andreen I, Jonsson B (1988): The earlier colonization by mutans streptococci, the higher the caries prevalence at 4 years of age. *Oral Microbiol Immunol* 3:14-17.
 96. Köhler B, Bjarnason S (1987): Mutans streptococci, lactobacilli and caries prevalence in 11- and 12-year-old Icelandic children. *Community Dent Oral Epidemiol* 15(6):332-325.
 97. Kühnisch J, Dietz W, Heinrich-Weltzien R, Noren JG, Stöber L (2003): Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung zur Neonatallinie. *Int Poster J Dent Oral Med* 5(01) Poster 157.

-
98. Lai PY, Seow WK, Tudehope DI, Rogers Y (1997): Enamel hypoplasia and dental caries in very-low birthweight children: a case-controlled, longitudinal study. *Pediatr Dent* 19(1):42-49.
 99. Li Y, Caufield PW (1995): The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. *J Dent Res* 74(2):681-685.
 100. Li Y, Navia JM, Bian JY (1996): Caries experience in deciduous dentition of rural Chinese children 3-5 years old in relation to the presence or absence of enamel hypoplasia. *Caries Res* 30(1):8-15.
 101. Li Y, Navia JM, Caufield PW (1994): Colonization by mutans streptococci in the mouths of 3- and 4-year-old Chinese children with or without enamel hypoplasia. *Arch Oral Biol* 39(12):1057-1062.
 102. Lindquist B, Emilson CG (1991a): Dental location of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in humans harboring both species. *Caries Res* 25(2):146-152.
 103. Lindquist B, Emilson CG (1991b): Interactions between and within *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* isolated from humans harboring both species. *Scand J Dent Res* 99(6):498-504.
 104. Listgarten MA (1976): Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study. *J Periodontol* 47:1-18.
 105. Loesche WJ (1976): Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci Rev* 9:63-107.
 106. Loesche WJ (1986): Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 50(4):353-380.
 107. Loesche WJ, Eklund S, Earnest R, Burt B (1984): Longitudinal investigation of bacteriology of human fissure decay: Epidemiological studies in molars shortly after eruption. *Infect Immun* 46(3):765-772.
 108. Loesche WJ, Rowan J, Straffon LH, Loos PJ (1975): Association of *Streptococcus mutans* with human dental decay. *Infect Immun* 11(6):1252-1260.
 109. Lönnerdal B, Forsum E, Gebre-Medhin M, Hambraeus L (1976b): Breast milk composition in Ethiopian and Swedish mothers. II. Lactose, nitrogen, and protein contents. *Am J Clin Nutr* 29(10):1134-1141.
 110. Lönnerdal B, Forsum E, Hambraeus L (1976a): A longitudinal study of the protein, nitrogen, and lactose contents of human milk from Swedish well-nourished mothers. *Am J Clin Nutr* 29(10):1127-1133.

-
111. Makihiro S, Nikawa H, Tamagami M, Hamada T, Nishimura H, Ishida K, Yamashiro H (2002): Bacterial and candida adhesion to intact and denatured collagen in vitro. *Mycoses* 45:389-392.
 112. Marchant S, Brailsford SR, Twomey AC, Roberts GJ, Beighton D (2001): The predominant microflora of nursing caries lesions. *Caries Res* 35:397-406.
 113. Marsh P, Martin VM (2003): *Orale Mikrobiologie*. Erste Aufl. Stuttgart: Thieme-Verlag, 28,95-96,111,124.
 114. Marsh PD (1994): Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 8:263-271.
 115. Marsh PD (2003): Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology* 149(Pt 2):279-294.
 116. Marsh PD (2004): Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res* 38:204-211.
 117. Marsh PD (2006): Dental plaque as a biofilm and a microbial community - implications for health and disease. *BMC Oral Health* 15;6 Suppl 1:S14.
 118. Marsh PD (2009): Dental plaque as a biofilm: The significance of pH in health and caries. *Compend Contin Educ Dent* 30(2):76-78,80,83-87.
 119. Marsh PD, Bradshaw DJ (1997): Physiological approaches to the control of oral biofilms. *Adv Dent Res* 11(1):176-185.
 120. Masuda N, Shimamoto T, Kitamura K, Sobue S, Hamada S (1985): Transmission of *Streptococcus mutans* in some selected families. *Microbios* 44(181S):223-232.
 121. Matee M, van't Hof M, Maselle S, Mikx F, van Palenstein Helderman W (1994): *Mutans streptococci* in caries-active and caries-free infants in Tanzania. *Community Dent Oral Epidemiol* 22(5Pt1):289-293.
 122. Matee MI, Mikx FH, Maselle SY, Van Palenstein Helderman WH (1992): *Mutans streptococci* and *lactobacilli* in breast-fed children with rampant caries. *Caries Res* 26(3):183-187.
 123. Mattos-Graner RO, Li Y, Caufield PW, Duncan M, Smith DJ (2001): Genotypic diversity of *mutans streptococci* in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission. *J Clin Microbiol* 39(6):2313-2316.
 124. Mattos-Graner RO, Smith DJ, King WF, Mayer MP (2000): Water-insoluble glucan synthesis by *mutans streptococcal* strains correlates with caries incidence in 12- to 30-month-old children. *J Dent Res* 79(6):1371-1377.

-
125. McBride BC, Van der Hoeven JS (1981): Role of interbacterial adherence in colonization of the oral cavities of gnotobiotic rats infected with *Streptococcus mutans* and *Veillonella alcalescens*. *Infect Immun* 33(2):467-472.
 126. McGrady JA, Butcher WG, Beighton D, Switalski LM (1995): Specific and charge interactions mediate collagen recognition by oral lactobacilli. *J Dent Res* 74(2):649-657.
 127. Merte, A (2002): Zur Transmission von Mutans-Streptokokken [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
 128. Michalek SM, Hirasawa M, Kiyono H, Ochiai K, McGhee JR (1981): Oral ecology and virulence of *Lactobacillus casei* and *Streptococcus mutans* in gnotobiotic rats. *Infect Immun* 33(3):690-696.
 129. Milnes AR (1996): Description and epidemiology of nursing caries. *J Public Health Dent* 56(1):38-50.
 130. Milnes AR, Bowden GH (1985): The microflora associated with developing lesions of nursing caries. *Caries Res* 19(4): 289-297.
 131. Moalic E, Gestalin A, Quinio D, Gest PE, Zerilli A, Le Flohi AM (2001): The extent of oral fungal flora in 353 students and possible relationships with dental caries. *Caries Res* 35:149-155.
 132. Mohan A, Morse DE, O'Sullivan DM, Tinanoff N (1998): The relationship between bottle usage/content, age, and number of teeth with mutans streptococci colonization in 6-24-month-old children. *Community Dent Oral Epidemiol* 26(1):12-20.
 133. Navia JM (1994): Carbohydrates and dental health. *Am J Clin Nutr* 59(3 Suppl):719S-727S.
 134. Oliveira AF, Chaves AM, Rosenblatt A (2006): The influence of enamel defects on the development of early childhood caries in a population with low socioeconomic status: a longitudinal study. *Caries Res* 40(4):296-302.
 135. Ollila P, Niemelä M, Uhari M, Larmas M (1997): Risk factors for colonization of salivary lactobacilli and candida in children. *Acta Odontol Scand* 55(1):9-13.
 136. Ollila P, Niemelä M, Uhari M, Larmas M (1998): Prolonged pacifier-sucking and use of a nursing bottle at night: possible risk factors for dental caries in children. *Acta Odontol Scand* 56(4):233-237.
 137. O'Sullivan DM, Tinanoff N (1993a): Social and biological factors contributing to caries of the maxillary anterior teeth. *Pediatr Dent* 15(1):41-44.

-
138. O'Sullivan DM, Tinanoff N (1993b): Maxillary anterior caries associated with increased caries risk in other primary teeth. *J Dent Res* 72(12):1577-1580.
139. Owen OW (1949): A study of bacterial counts (lactobacilli) in saliva related to orthodontic appliances. *Am J Orthod* 35:672-678.
140. Parolo CCF, Do T, Henssge U, Alves LS, Giongo FCMS, Corção G, Maltz M, Beighton D (2009): MLST analysis of *Lactobacillus paracasei* in oral biofilm formed in situ. *Caries Res* 43:196-197.
141. Parolo CCF, Maltz M (2006): Microbial contamination of noncavitated caries lesions: A scanning electron microscopic study. *Caries Res* 40:536-541.
142. Peretz B, Sarit F, Eidelman E, Steinberg D (2003): Mutans streptococcus counts following treatment for early childhood caries. *J Dent Child (Chic)* 70:111-114.
143. Petti S, Pezzit R, Cattaruzza MS, Osborn JF, D'Arca AS (1997): Restoration-related salivary *Streptococcus mutans* level: a dental caries risk factor? *J Dent* (25)34:251-262,199.
144. Pine CM, Adair PM, Burnside G, Nicoll AD, Gillett A, Borges-Yáñez SA, Broukal Z, Brown JP, Declerck D, Ping FX, Gugushe Hunsrisakhun J, Lo ECM, Naidoo S, Nyandindi U, Poulsen J, Razanamihaja N, Splieth C, Sutton BK, Soo TC, Whelton H (2004a): Barriers to the treatment of childhood caries perceived by dentists working in different countries. *Community Dent Health* 21 (Suppl 1):112-120.
145. Pine CM, Adair PM, Nicoll AD, Burnside G, Petersen PE, Beighton D, Gillett A, Anderson R, Anwar S, Brailsford S, Broukal Z, Chestnutt IG, Declerck D, Ping FX, Ferro R, Freeman R, Gugushe T, Harris R, Lin Brent, Lo ECM, Maupomé G, Moola MH, Naidoo S, Ramos-Gomez F, Samaranayake LP, Shahid S, Skeie MS, Splieth C, Sutton BK, Soo TC, Whelton H (2004b): International comparisons of health inequalities in childhood dental caries. *Community Dent Health* 21 (Suppl 1):121-130.
146. Primosch RE, Balsewich CM, Thomas CW (2001): Outcomes assessment an intervention strategy to improve parental compliance to follow-up evaluations after treatment of early childhood caries using general anesthesia in a medicaid population. *ASDC J Dent Child* 68(2):102-108,80.
147. Radford JR, Ballantyne HM, Nugent Z, Beighton D, Robertson M, Longbottom C, Pitts NB (2000): Caries-associated microorganisms in infants from different socio-economic backgrounds in Scotland. *J Dent* 28(5):307-312.

-
148. Ramoz-Gomez FJ, Petru A, Hilton JF, Canchola AJ, Wara D, Greenspan JS (2000): Oral manifestations and dental status in Paediatric HIV infection. *Int J Paediatr Dent* 10:3-11.
 149. Ripa LW (1988): Nursing caries: a comprehensive review. *Pediatr Dent* 10(4):268-282.
 150. Robke FJ (2007): Folgen des Nuckelflaschenmissbrauchs für die Zahngesundheit. *Orthofac Orthop* 69:5-19.
 151. Rugg-Gunn AJ, Al-Mohammadi SM, Butler TJ (1998): Malnutrition and developmental defects of enamel in 2- to 6-year-old Saudi boys. *Caries Res* 32(3):181-192.
 152. Ruopp B (2005): Zur Quelle von Mutans-Streptokokken bei Schulanfängern und Maßnahmen zur Keimreduktion [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
 153. Rupf S, Merte K, Eschrich K, Kneist S (2006): *Streptococcus sobrinus* in children and its influence on caries activity. *Eur Arch Paediatr Dent* 7(1):19-24.
 154. Samaranayake LP, Hughes A, Weetmatt DA, MacFarlane TW (1986): Growth and acid production of *Candida* species in human saliva supplemented with glucose. *J Oral Pathol* 15:251-254.
 155. Sanderink RBA (2004): Actinomycetaceae In: Sanderink RBA, Bernhardt H, Knoke M, Meyer J, Weber C, Weiger R, Kramer A (2004): *Curriculum orale Mikrobiologie und Immunologie*. Erste Auflage. Berlin: Quintessenz, 225-229.
 156. Schachtele CF, Staat RH, Harlander SK (1975): Dextranases from oral bacteria: inhibition of water-insoluble glucan production and adherence to smooth surfaces by *Streptococcus mutans*. *Infect Immun* 12(2):309-317.
 157. Scharff S (2004): Zur Bacteriocinproduktion von Mutans- und oralen Streptokokken [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
 158. Schroeder HE (1992): *Orale Strukturbiologie: Entwicklungsgeschichte, Struktur und Funktion normaler Hart- und Weichgewebe der Mundhöhle und des Kiefergelenks*. Vierte Auflage. Stuttgart: Thieme-Verlag, 297-298.
 159. Schulz-Weidner N, Ansari F, Hossain H, Chakraborty T, Domann E, Wetzel WE (2005): Vergleichende PCR-Typisierung von *Candida albicans* aus der Mundhöhle und dem Magen-Darm-Trakt. *Oralprophylaxe und Kinderzahnheilkunde* 27:139-143.
 160. Seow WK (1998): Biological mechanisms of early childhood caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 26(1 Suppl):8-27.

-
161. Shantinath SD, Breiger D, Williams BJ, Hasazi JE (1996): The relationship of sleep problems and sleep-associated feeding to nursing caries. *Pediatr Dent* 18(5):375-378.
 162. Slavkin HC (1999): *Streptococcus mutans*, early childhood caries and new opportunities. *J Am Dent Assoc* 130:1787-1792.
 163. Spatafora G, Rohrer K, Barnard D, Michalek S (1995): A *Streptococcus mutans* mutant that synthesizes elevated levels of intracellular polysaccharide is hypercariogenic in vivo. *Infect Immun* 63(7):2556-2563.
 164. Splieth CH, Treuner A, Berndt C (2009): Orale Gesundheit im Kleinkindalter. *Präv Gesundheitsf* 4:119-123.
 165. Starr JR, White TC, Leroux BG, Luis HS, Bernardo M, Leitao J, Roberts MC (2002): Persistence of oral *Candida albicans* carriage in healthy Portuguese schoolchildren followed for 3 years. *Oral Microbiol Immunol* 17(5):304-310.
 166. Steinle CJ, Madonia JV, Bahn AN (1967): Relationship of lactobacilli to the carious lesion. *J Dent Res* 46(1):191-196.
 167. Takahashi N, Nyvad B (2008): Caries ecology revisited: Microbial dynamics and the caries process. *Caries Res* 42:409-418.
 168. Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM (2001): The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ* 65(10):1028-1037.
 169. Tinanoff N, Palmer CA (2000). Dietary determinants of dental caries and dietary recommendations for preschool children. *J Public Health Dent* 60(3):197-206.
 170. Toi CS, Cleaton-Jones PE, Daya NP (1999): Mutans streptococci and other caries-associated acidogenic bacteria in five-year-old children in South Africa. *Oral Microbiol Immunol* 14(4):238-243.
 171. Twetman S, García-Godoy F, Goepferd SJ (2000): Infant oral health. *Dent Clin North Am* 44(3):487-505.
 172. Vadiakas G (2007): Working Paper for the EAPD guidelines on Early Childhood Caries. Early Childhood Caries, 5th E.A.P.D. Interims Seminar and 24th Congress of the Swiss Association of Paediatric Dentistry, March 23 to 24, Winterthur
 173. van Houte J, Gibbons RJ, Pulkkinen AJ (1972). Ecology of human oral lactobacilli. *Infect Immun* 6(5):723-729.
 174. van Houte J, Gibbs G, Butera CJ (1982): Oral flora of children with "nursing bottle caries". *J Dent Res* 61(2):382-385.

-
175. van Lunsen DM, de Soet JJ, Weerheijm KL, Groen HJ, Veerkamp JSJ (2000): Effects of dental treatment and single application of a 40% Chlorhexidine varnish on mutans streptococci in young children under intravenous anaesthesia. *Caries Res* 34:268-274.
 176. van Palenstein Helderman WH, Soe W, van 't Hof MA (2006): Risk factors of early childhood caries in a Southeast Asian population. *J Dent Res* 85(1):85-88.
 177. Verfassung der Weltgesundheitsorganisation (WHO) vom 22. Juli 1946. SR 0.810.1.
 178. Wan AK, Seow WK, Purdie DM, Bird PS, Walsh LJ, Tudehope DI (2001): Oral colonization of *Streptococcus mutans* in six-month-old preterm infants. *J Dent Res* 80(12):2060-2065.
 179. Wan AK, Seow WK, Purdie DM, Bird PS, Walsh LJ, Tudehope DI (2003): A longitudinal study of *Streptococcus mutans* colonization in infants after tooth eruption. *J Dent Res* 82(7):504-508.
 180. Wendt LK, Birkhed D (1995): Dietary habits related to caries development and immigrant status in infants and toddlers living in Sweden. *Acta Odontol Scand* 53(6):339-344.
 181. Wetzel WE (1982): "Zuckertee-Karies" als Folge exzessiven Genusses von Fertigtees aus Saugerfläschchen. *Monatsschr Kinderheilkd* 130:726-730.
 182. Wetzel WE (1988): "Nursing-Bottle-Syndrom" NBS bei Kleinkindern. *Monatsschr Kinderheilkd* 136:673-679.
 183. Wetzel WE, Böhmer C, Sziegoleit A (1997): In-vitro-Karies durch *Candida albicans*. *Acta Med Dent Helv* 2:308-313.
 184. Wetzel WE, Hanisch S, Sziegoleit A (1993): Keimbesiedelung der Mundhöhle bei Kleinkindern mit Nursing-Bottle-Syndrom. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 103:1107-1112.
 185. Wetzel WE, Sziegoleit A (1991): Karies-Candidose in Milch-, Wechsel- und bleibenden Gebissen. *ZM* 81(2):104-108.
 186. Wetzel WE, Sziegoleit A (1998): *Candida* und Karies. Was können Pilze in der Mundhöhle? *Spiegel der Forschung* 15(2):85-90.
 187. Wetzel WE, Sziegoleit A, Wecker C (1985): Karies-Candidose im Milchgebiss. *ZM* 75(2):110-114.
 188. Whiley RA, Beighton D (1998): Current classification of the oral streptococci. *Oral Microbiol Immunol* 13(4):195-216.

-
189. Wyne AH (1996): Early childhood caries. A review. *Indian J Dent Res* 7(1):7-15.
 190. Wyne AH (1999): Early childhood caries: Nomenclature and case definition. *Community Dent Oral Epidemiol* 27(5):313-315.
 191. Zoitopoulos L, Brailsford SR, Gelbier S, Lundford RW, Marchant SH, Beighton D (1996): Dental caries and caries-associated microorganisms in the saliva and plaque of 3- and 4-year-old Afro-Caribbean and Caucasian children in South London. *Arch Oral Biol* 41(11):1011-1018.

9 Anhang

Danksagung
Ehrenwörtliche Erklärung
Lebenslauf

Danksagung

Frau Professor Dr. rer. nat. habil. Susanne Kneist, Biologisches Labor am Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde am Universitätsklinikum Jena, und Frau Professor em. Dr. Dr. h.c. Annerose Borutta danke ich ganz herzlich für die Überlassung des Promotionsthemas, die Unterstützung bei der Durchführung der klinischen und mikrobiologischen Untersuchungen und die wissenschaftliche Begleitung und das Interesse am Gelingen der Arbeit.

Dank gebührt ebenfalls den Mitarbeiterinnen des Biologischen Labors, Frau MTLA Regina Mäuer und Frau Biologielaborantin Katrin von Brandenstein, für die Unterstützung und Assistenz bei den mikrobiologischen Untersuchungen.

Der Mitarbeiterin des Elektronenmikroskopischen Zentrums am Universitätsklinikum, Frau Dipl. Ing. Renate Kaiser, danke ich ebenfalls sehr herzlich für die freundliche Unterstützung bei der Arbeit am Rasterelektronenmikroskop.

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir verwendeten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Prof. Dr. rer. nat. habil Susanne Kneist und

Professor em. Dr. Dr. h.c. Annerose Borutta

die Hilfe eines Promotionberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für die Arbeit erhalten haben, die in Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, ein in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 15.01.2010

Katrin Senf

Lebenslauf

Name, Vorname	Senf, Katrin
Geburtsdatum	10.06.1981
Geburtsort	Eisenach
Familienstand	ledig
Nationalität	deutsch

Schulbildung

1988 – 1992	Grundschule, Marksuhl
1992 – 2000	Gymnasium, Gerstungen
2000	Abitur

Hochschulbildung

10.2000 – 09.2002	Studium der Biologie an der Julius-Maximilians Universität, Würzburg
2002	Vordiplom Biologie
10.2002 – 12.2008	Studium der Zahnmedizin an der Friedrich-Schiller Universität Jena
03.2005	Zahnärztliche Vorprüfung
07.2007 – 12.2007	Zahnärztliche Prüfung
01.2008	Approbation als Zahnärztin
02.2006 – 12.2009	Promotionsstudent an der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fachschaft Zahnmedizin

Berufstätigkeit

seit 05.2008	Vorbereitungsassistentin in der Gemeinschaftspraxis Dr. P. Brachmann und Dr. J. Friedrich in Römhild (Thüringen)
--------------	--

Jena, den 15.01.2009	Katrin Senf
----------------------	-------------